

NÉE 1929

# THÈSE

516<sup>No</sup>

POUR LE

## DOCTORAT EN MÉDECINE

(DIPLOME D'ÉTAT)

PAR

**EDMOND-JULIEN-LOUIS LEMAIRE**

Né le 8 Février 1902, à Courrières (Pas-de-Calais)

Ancien Interne des Hôpitaux et de la Maternité de la Seine

Diplôme de l'Institut d'Hygiène

de l'Institut de Médecine Légale et de Psychiatrie

de l'Institut de Criminologie

de l'Institut de Médecine Coloniale

de l'Institut de Malariologie

de l'Université de Paris

Médecin Sanitaire Maritime

Membre de la Société de Médecine et d'Hygiène tropicales

Médaille de bronze de l'Assistance Publique

Médaille d'honneur des Epidémies

---

### L'Application pratique sans instrumentation spéciale de quelques recherches modernes de Laboratoire

---

#### Matériel, Technique, Résultats

---

*Président de Thèse : M. le Professeur L. TANON.*

---

MARCEL VIGNÉ, ÉDITEUR

13, RUE DE L'ÉCOLE-DE-MÉDECINE, 13  
PARIS



ANNÉE 1929

# THÈSE

N° .....

POUR LE

## DOCTORAT EN MÉDECINE

(DIPLOME D'ÉTAT)

PAR

**EDMOND-JULIEN-LOUIS LEMAIRE**

Né le 8 Février 1902, à Courrières (Pas-de-Calais)

Ancien Interne des Hôpitaux et de la Maternité de la Seine

Diplôme de l'Institut d'Hygiène

de l'Institut de Médecine Légale et de Psychiatrie

de l'Institut de Criminologie

de l'Institut de Médecine Coloniale

de l'Institut de Malariologie

de l'Université de Paris

Médecin Sanitaire Maritime

Membre de la Société de Médecine et d'Hygiène tropicales

Médaille de bronze de l'Assistance Publique

Médaille d'honneur des Epidémies

### **L'Application pratique sans instrumentation spéciale de quelques recherches modernes de Laboratoire**

#### **Matériel, Technique, Résultats**

*Président de Thèse : M. le Professeur L. TANON.*

MARCEL VIGNÉ, ÉDITEUR

13, RUE DE L'ÉCOLE-DE-MÉDECINE, 13  
PARIS

1929

# I. — PROFESSEURS

|                                                                     |                  |
|---------------------------------------------------------------------|------------------|
| <i>Le Doyen</i> .....                                               | M. ROGER         |
|                                                                     | MM.              |
| Anatomie .....                                                      | ROUVIÈRE.        |
| Anatomie médico-chirurgicale et chirurgie expérimentale .....       | CUNEO.           |
| Physiologie .....                                                   | ROGER.           |
| Physique médicale .....                                             | STROHL.          |
| Chimie médicale .....                                               | DESGREZ.         |
| Bactériologie .....                                                 | LEMIERRE.        |
| Parasitologie et histoire naturelle médicale ..                     | BRUMPT.          |
| Pathologie et thérapeutique générales .....                         | BAUDOUIN.        |
| Pathologie médicale .....                                           | CLERC.           |
| Pathologie chirurgicale .....                                       | LECÈNE.          |
| Anatomie pathologique .....                                         | ROUSSY.          |
| Histologie .....                                                    | CHAMPY.          |
| Pharmacologie et matière médicale .....                             | TIFFENEAU.       |
| Thérapeutique .....                                                 | LÉPER.           |
| Hygiène et Médecine préventive.....                                 | TANON.           |
| Médecine légale .....                                               | BALTHAZARD.      |
| Histoire de la médecine et de la chirurgie ....                     | MÉNÉTRIÉR.       |
| Pathologie expérimentale et comparée .....                          | RATHERY.         |
| Hydrologie thérapeutique et climatologie ...                        | MAURICE VILLARET |
|                                                                     | CARNOT.          |
| Clinique médicale .....                                             | BEZANÇON.        |
|                                                                     | ACHARD.          |
|                                                                     | Marcel LABBE.    |
| Hygiène et clinique de la première enfance ..                       | LEREBOULLET.     |
| Clinique des maladies des enfants .....                             | NOBÉCOURT.       |
| Clinique des maladies mentales et des maladies de l'encéphale ..... | H. CLAUDE.       |
| Clinique des maladies cutanées et syphilitiques                     | GOUGEROT.        |
| Clinique des maladies du système nerveux ..                         | GUILLAIN.        |
| Clinique des maladies infectieuses .....                            | TEISSIER.        |
|                                                                     | DELBET.          |
| Clinique chirurgicale .....                                         | HARTMANN.        |
|                                                                     | LEJARS.          |
|                                                                     | GOSSET.          |
| Clinique ophtalmologique .....                                      | TERRIEN.         |
| Clinique urologique .....                                           | LEGUEU.          |
| Clinique d'accouchements .....                                      | COUVELAIRE.      |
|                                                                     | BRINDEAU.        |
|                                                                     | JEANNIN.         |
| Clinique gynécologie .....                                          | J.-L. FAURE.     |
| Clinique chirurgicale infantile et orthopédie ..                    | OMERÉDANNE.      |
| Clinique thérapeutique médicale .....                               | VAQUEZ.          |
| Clinique oto-rhino-laryngologique .....                             | SEBILEAU.        |
| Clinique thérapeutique chirurgicale .....                           | Pierre DUVAL.    |
| Clinique propédeutique .....                                        | SERGENT.         |
| Clinique de la Tuberculose .....                                    | LÉON BERNARD.    |
| Professeur sans chaire .....                                        | MAUCLAIRE,       |

## II. — AGRÉGÉS EN EXERCICE

MM.

|                                      |                       |
|--------------------------------------|-----------------------|
| Neurologie et Psychiatrie .....      | ALAJOUANINE.          |
| Pathologie médicale .....            | AUBERTIN.             |
| Pathologie médicale .....            | BÉNARD Henri.         |
| Physiologie .....                    | BINET.                |
| Chimie biologique .....              | BLANCHETIÈRE.         |
| Pathologie chirurgicale .....        | BROCQ.                |
| Pathologie médicale .....            | BRULÉ.                |
| Pathologie chirurgicale .....        | CADENAT.              |
| Pathologie médicale .....            | CATHALA.              |
| Pathologie médicale .....            | CHABROL.              |
| Pathologie médicale .....            | CHEVALLIER.           |
| Pathologie chirurgicale .....        | DE GAUDART-D'ALLAINES |
| Physique .....                       | DOGNON.               |
| Pathologie médicale .....            | DONZELOT.             |
| Obstétrique .....                    | ECALLE.               |
| Urologie .....                       | FEY.                  |
| Pathologie expérimentale .....       | GARNIER.              |
| Bactériologie .....                  | GASTINEL.             |
| Pathologie chirurgicale .....        | GATELLIER.            |
| Histologie .....                     | GIROUD.               |
| Pathologie médicale .....            | HARVIER.              |
| Anatomie .....                       | HOVELACQUE.           |
| Pathologie médicale .....            | HUTINEL.              |
| Hygiène .....                        | JOANNON.              |
| Parasitologie .....                  | JOYEUX.               |
| Chimie biologique .....              | LABBÉ (Henri).        |
| Pathologie médicale .....            | LAROCHE Guy.          |
| Oto-rhino-laryngologie .....         | LEMAITRE.             |
| Anatomie Pathologique .....          | LEROUX.               |
| Pathologie chirurgicale .....        | LEVEUF.               |
| Pathologie mentale .....             | LIAN.                 |
| Pharmacologie .....                  | MERCIER Fernand.      |
| Pathologie chirurgicale .....        | MONDOR.               |
| Pathologie médicale .....            | MOREAU.               |
| Pathologie chirurgicale .....        | MOULONGUET.           |
| Pathologie chirurgicale .....        | MOURE.                |
| Histologie .....                     | MULON.                |
| Anatomie Pathologique .....          | OBERLING.             |
| Anatomie .....                       | OLIVIER.              |
| Médecine légale .....                | PIÉDELIEVRE.          |
| Obstétrique .....                    | PORTES.               |
| Pathologie chirurgicale .....        | QUÉNU.                |
| Physiologie .....                    | RICHET Fils.          |
| Dermatologie et syphiligraphie ..... | SÉZARY.               |
|                                      | VALLERY-RADOT.        |
|                                      | (Pasteur)             |
| Pathologie médicale .....            | VAUDESCAL.            |
| Obstétrique .....                    | VELTER.               |
| Ophthalmologie .....                 | VERNE.                |
| Histologie .....                     | VIGNES.               |
| Obstétrique .....                    |                       |

### III. — AGRÉGÉS RAPPELÉS A L'EXERCICE

#### POUR LE SERVICE DES EXAMENS

MM.

|                     |                |
|---------------------|----------------|
| Pharmacologie ..... | BUSQUET.       |
| Obstétrique .....   | GUENIOT.       |
| Obstétrique .....   | LEQUEUX.       |
| Parasitologie ..... | NEVEU-LEMAIRE. |
| Histologie .....    | DEMELIN.       |
| Physique .....      | ZIMMERN.       |

### IV. — AGRÉGÉS CHARGÉS DE COURS DE CLINIQUE

#### (ANNEXE)

#### A TITRE PERMANENT

MM.

|                             |                   |
|-----------------------------|-------------------|
| Clinique chirurgicale ..... | ALGLAVE.          |
| Clinique chirurgicale ..... | AUVRAY.           |
| Clinique chirurgicale ..... | CHEVASSU.         |
| Clinique médicale .....     | LAIGNEL-LAVASTINE |
| Clinique obstétricale ..... | LE LORIER.        |
| Clinique médicale .....     | LÉRI.             |
| Clinique chirurgicale ..... | MOCQUOT.          |
| Clinique chirurgicale ..... | PROUST.           |
| Clinique chirurgicale ..... | SCHWARTZ.         |

### V. — CHARGÉS DE COURS

MM.

|                                                                                                                                                      |                    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------|
| Chargé du cours de chirurgie orthopédique<br>chez l'adulte pour les accidentés du<br>travail, les mutilés de guerre et les<br>infirmes adultes ..... | MAUCLAIRE, agrégé. |
| Stomatologie .....                                                                                                                                   | FREY.              |
| Education physique .....                                                                                                                             | CHAILLEY-BERT.     |
| Radiologie clinique .....                                                                                                                            | LEDoux-LEBARD.     |
| Puériculture .....                                                                                                                                   | WEILL-HALLÉ.       |

---

*Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'Ecole a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.*

A MON PÈRE

A MA MÈRE

---

A MON ANCIEN CAMARADE YVES LANDA

*En souvenir de notre commune captivité  
4 mars 1917-11 novembre 1918.*

---

AU DOCTEUR ALBERT DRUART

*En souvenir du secteur 131.*

---

MEIS ET AMICIS

---

A MON PRÉSIDENT DE THÈSE

MONSIEUR LE PROFESSEUR TANON

Professeur d'Hygiène à la Faculté de Médecine de Paris  
Médecin en chef des Services d'Hygiène à la Préfecture de Police

*Qui, après avoir été mon Juge d'Internat, fut  
mon Maître aux Instituts de Médecine colo-  
niale et d'Hygiène, ne cessant de me prodi-  
guer en toute occasion les marques de sa  
bienveillance. Qu'il veuille trouver en cette  
thèse l'hommage de ma profonde gratitude.*

---

A MES MAÎTRES DANS LES HÔPITAUX

M. LE PROFESSEUR PIERRE DELBET (1920)

M. LE PROFESSEUR EMILE SERGENT (1921)

MM. CHEVRIER & HENRI DUFOUR (1922)

*Qui, dès le début de mes études médicales  
m'ont honoré de leur amitié et de leur appui.*

— Externat —

M. MORAX (1923)

M. LE PROFESSEUR AGRÉGÉ ANDRÉ LÉRI (1924)

M. COURCOUX (1925)

*Auquel je dois une particulière reconnaissance  
pour l'indulgence qu'il m'a toujours témoi-  
gnée, notamment quand je faisais fonction  
d'interne dans son service de l'hôpital Bou-  
cicault.*

M. LESNÉ (1926)

— Internat —

1926-1929

M. RAYMOND FRANÇAIS

*Dont je saurai me rappeler le fructueux ensei-  
gnement clinique et la prudence opératoire.*

M. MARCEL SÉNÉCHAL

*Qui n'a rien négligé pour faire de moi un chi-  
rurgien à la technique sûre, au geste précis.*

M. PELLETIER

*Qui m'a donné les meilleures leçons de chi-  
rurgie urinaire.*

M. ENGEL

*Dont je fus non seulement l'élève, mais aussi  
l'opéré.*

A MES MAITRES  
DE L'INSTITUT DE MÉDECINE COLONIALE  
A MM. LES PROFESSEURS BALTHAZARD & CLAUDE

& A MES MAITRES  
DE L'INSTITUT DE MÉDECINE LÉGALE  
& DE PSYCHIATRIE

A MES MAITRES DE L'INSTITUT D'HYGIENE

A M. LE PROFESSEUR BRUMPT

A M. LANGERON

& A MES MAITRES DE L'INSTITUT DE MALARIOLOGIE

A M. ANDRÉ BIDERMANN

*Qui fut pour moi un ami autant qu'un maître.*

A MM. NIEL, A. RICHARD, BARTHÉLEMY,  
ED. HARTMANN, COURTAÏN, LARGET, DEVRAIGNE,  
GRIVOT, THIERRY (1919), DYÉ (*in memoriam*), NEVEU,  
NAVARRÉ, A. CEILLIER, PHILIPPE, KOHN-ABREST,  
BAYLE (*in memoriam*), LAIGRE, VIVY, PICHON.

A MM. SADI & ELISEO DE BUEN  
LUENGO & COLLADO

de la Commission Centrale Antipaludique espagnole

A M. DE PRADA

Inspecteur provincial de santé de Salamanque

A MM. LES PROFESSEURS DIONISI,  
MISSIROLI & RAFFAELE

de la Station expérimentale Rockefeller de Rome

A PH. DECOURT, A. COMNINOS

A MES COLLÈGUES D'INTERNAT VERNOTTE,  
DI RUGGIERO, BOREL, FAURE, HUGUENIN.

## Introduction

---

Il n'y aura personne pour s'étonner qu'un chirurgien écrive un livre sur les *recherches de laboratoire*. Celles-ci constituent un des éléments d'information nécessaire aux différentes branches de l'activité médicale; il est souvent bon, parfois indispensable, de les ajouter aux données fournies par l'examen clinique. Chacun sait qu'il ne faut leur demander que ce qu'elles peuvent donner : une confirmation ou une infirmation d'une impression clinique, une précision traduisant par un chiffre une anémie, une insuffisance rénale... vers lesquelles le sens clinique avait aiguillé les investigations.

Toutes les fois que c'est matériellement possible, on devra, en présence d'une maladie sérieuse, ne pas hésiter à s'entourer des renseignements complémentaires dont on puisse bénéficier; faute de ces précautions, si la situation venait à empirer, il se trouverait toujours quelqu'un pour déclarer que le médecin a laissé mourir son malade, ou que le chirurgien l'a tué.

Le laboratoire doit être au service de la clinique. Nom-

breux sont les livres qui traitent de la question ; et les plus simples et les plus précis sont les meilleurs.

\* \*

Mais à côté des recherches simples et pour ainsi dire journalières, ont pris naissance des recherches plus compliquées et plus spéciales : métabolisme basal, réserve alcaline, pouvoir opsonique, mesure du pH, micro-dosage de la glycémie, etc...

Ces recherches ne sont effectuées que rarement dans la pratique courante. Pourquoi ? A cela, nous voyons deux raisons :

La première, c'est que les techniques ne se trouvent pas dans la plupart de nos manuels didactiques et quand elles s'y trouvent, elles manquent de simplicité ; il faut souvent rechercher dans des revues scientifiques françaises ou étrangères la description de *techniques compliquées*, souvent contradictoires — car pour chaque auteur une seule technique est bonne : la sienne — le tout noyé dans un fatras de considérations théoriques et de calculs à perte de vue.

La seconde raison consiste dans le *prix* du matériel qu'il est indispensable d'acquérir pour mettre en œuvre ces travaux, dépenses que seuls peuvent engager les laboratoires dotés d'un gros budget.

Pour que les recherches spéciales se généralisent, il faudrait donc : des *méthodes simples et rapides, ne nécessitant*

que des réactifs stables et un minimum d'instrumentation, tout en offrant les mêmes garanties scientifiques. Nous avons tenté pour quelques-unes de chercher à réaliser cette technique.

Cette thèse n'est pas une improvisation : depuis dix ans que nous nous intéressons aux recherches biologiques, nous avons essayé de nombreux procédés et avons compris sans peine que fort peu des méthodes spéciales dont nous parlons, trop délicates, trop coûteuses, trop longues surtout, n'aient pas réussi à intéresser les cliniciens. Voilà pourquoi pour notre convenance personnelle d'abord, nous avons essayé de faire simple ; et ce n'est que par la suite que, sur le conseil de quelques amis, nous nous sommes décidé à publier ces pages.

Il ne s'agit pas d'une revue générale, mais de l'exposé de méthodes simplifiées, quelquefois choisies parmi les méthodes existantes, et plus rarement de techniques personnelles.

Souvent, nous employons une méthode connue en abrégant les manipulations, en élaguant les détails superflus, en remplaçant des calculs fastidieux (avec les multiples corrections requises) par un dosage comparatif sur un réactif étalon.

Si séduisantes qu'elles paraissent, nous n'avons retenu (en dehors de celle très simple du micro-dosage du glucose) aucune microméthode, car elles ne donnent de résultats satisfaisants qu'entre les mains de l'homme qui y consacre uni-

quement son temps, renouvelant fréquemment certains réactifs, les dosant constamment. Ce sont des méthodes très délicates, faites seulement de détails dont l'omission d'un seul suffit à donner des résultats d'une inexactitude invraisemblable.

La difficulté, c'est que bien souvent, à une simplification du matériel doit correspondre un surcroît de perfection dans l'habileté de l'opérateur, ce qui est, en quelque sorte, la rançon de la simplification. M. Grimberg, en poussant les choses à l'extrême, a eu sur les « méthodes cliniques » un mot d'esprit qui paraît sans réplique : elles « comportent assez d'imprécision pour que celui qui s'en sert puisse interpréter les résultats au gré de ses désirs ». Pourtant beaucoup de médecins éloignés d'un chimiste compétent ne peuvent utiliser les résultats de laboratoire que si ceux-ci sont faciles à obtenir : ou bien ils doivent y renoncer dans la pratique courante. Or, il est bien des cas aujourd'hui, où le meilleur clinicien du monde n'a plus le droit de se passer des résultats du laboratoire.

Avec un peu d'attention et une méthode bien choisie, on doit obtenir des résultats exacts. Mais il est bien certain qu'il est bon de ne se lancer dans les recherches de laboratoire que si l'on est décidé à apprendre tout d'abord à étirer, à souffler, à couder correctement un tube de verre et à utiliser son habileté manuelle autant que son bon sens.

On ne trouvera ici aucun des nombreux dosages tels que celui de l'acide urique, du calcium du sang, de la créatinine, de la lipémie qui, malgré leur intérêt ne se présentent pas comme des recherches fréquemment nécessaires; et nous n'avons aucune raison de révenir sur des questions entrées depuis longtemps dans les mœurs, telles que le dosage de l'urée sanguine par l'hypobromite dont la technique bien connue de tous, se trouve décrite partout « en long et en large ».

Par contre, nous avons cité certains renseignements qu'il est difficile de trouver ailleurs et qui peuvent rendre quelques services : la préparation de l'hypobromite en partant du bromure de potassium, la recherche rapide et sûre de l'urobiline, la prise de sang sans ponction veineuse ni ventouses, la détermination de la valeur optique d'un microscope, etc...

Nous avons ajouté à la fin du volume un index bibliographique où les ouvrages et les articles de base que nous indiquons permettront de retrouver les références principales. Nous avons, en outre, mentionné des articles, non signalés dans les indications bibliographiques sus-nommées, dont la lecture peut cependant être instructive.

Disons encore que les médecins à la recherche d'une technique sûre, d'une technique de base, feront bien de s'adresser de préférence :

1° Pour la chimie biologique à des techniques décrites

par des pharmaciens, mieux adoptés que les chimistes pour ce genre de questions.

2° Pour la bactériologie et la biologie, à des travaux exécutés par des médecins lesquels, vivant au chevet du malade, menant parallèlement clinique et laboratoire, savent, mieux que d'autres : les points importants sur lesquels le médecin a besoin d'être éclairé, les causes d'erreur, les oscillations physiologiques dans les résultats, la difficulté de saisir le seuil entre ce qui est normal et ce qui ne l'est pas.

Terminons cette trop longue introduction en rappelant que devant le résultat d'une analyse faite par soi ou par un autre, on devra avoir présent à l'esprit le judicieux conseil de Claude Bernard :

« Il est important de bien se rendre compte des conditions dans lesquelles se sont mis les expérimentateurs avant d'adopter les conclusions de leurs expériences, quelque probables que soient d'ailleurs leurs conclusions. »

Or, ce qui vaut pour les conditions de l'expérience et les conclusions, vaut aussi pour la technique employée et les résultats.

---

## CHAPITRE PREMIER

# Simplification de la Réaction de Bordet-Wassermann

### Technique personnelle (Rubinstein modifié)

---

#### JUSTIFICATION DE LA TECHNIQUE.

Pendant plusieurs années, nous avons tâtonné pour savoir quelle technique nous devions adopter.

La meilleure est évidemment celle qui possède les qualités :

- 1° De simplicité ;
- 2° De sensibilité ;
- 3° De sécurité.

Elle ne peut les avoir qu'à la condition :

- 1° De restreindre le nombre des réactifs employés ;
- 2° De procéder au dosage rigoureux de l'alexine ;
- 3° De multiplier les tubes témoins.

Pour ces raisons :

1° Nous avons vite abandonné les réactions au sérum chauffé et les réactions aux globules humains qui nécessitent

du sérum anti-globules (anti-mouton ou anti-humain suivant les cas) et par conséquent son dosage et ses tubes témoins. Les réactions au sérum chauffé nécessitent, en outre, l'apport d'une alexine étrangère qui les grève des complications inhérentes à son prélèvement et à son titrage.

2° Nous nous sommes arrêté à une technique dérivée de la méthode de Rubinstein, la seule méthode du sérum non chauffé qui permette de doser facilement le complément en même temps que se fait la réaction proprement dite. Nous employons deux fois plus de sérum suspect que Rubinstein afin de pouvoir doubler la quantité de globules rouges utilisée : les résultats gagnent ainsi en lisibilité.

3° Nous dosons chaque tube de réaction d'un tube témoin et nous adjoignons un tube d'antigène très dilué pour l'appréciation des réactions fortement positives.

Cette technique que nous employons depuis 1924 est d'exécution rapide : le titrage « préliminaire » de l'alexine et la réaction proprement dite s'exécutent en même temps. Quand nous étions élève de M. Léri, chez lequel nous avons étudié cette technique, nous faisions 50 « Wassermann » de la consultation de syphiligraphie en une matinée et nous aurions pu en faire facilement bien davantage. Or, pendant l'année que nous restâmes à l'Hôpital Cochin, tandis que ce travail se répétait deux fois par semaine, nous avons toujours vu les résultats concorder avec le Calmette-Massol et les

constatations cliniques, si bien que par la suite, nous nous sommes cantonné à cette seule réaction.

Nous ne pouvons nous empêcher de rappeler notre étonnement lorsque, jeune sérologiste, nous constatons que la simple réaction de Hecht faite sans dosage du complément donne *presque* toujours des résultats satisfaisants. Mais ce mot *presque* justifie à lui seul la recherche d'une technique qui ne soit pas aléatoire.

Pour la clarté de l'exposé, nous décrirons tout d'abord la technique en supposant que nous avons en main les réactifs tout prêts; puis nous donnerons ensuite les indications concernant la préparation et le titrage des réactifs. Nous nous abstiendrons de toute considération théorique pour ne pas embrouiller les renseignements pratiques que nous donnons.

## TECHNIQUE DE LA RÉACTION.

Les tubes à hémolyse sont disposés suivant deux rangées : la première formée des tubes témoins; la seconde formée des tubes pour la réaction proprement dite.

Les réactifs sont comptés en gouttes.

L'émulsion d'antigène diluée au dixième sert à apprécier les réactions très fortement positives.

Le tube I est virtuel, le tube II servant de témoin pour les tubes I' et II' lesquels ne diffèrent que par la dilution d'antigène employée.

|                                              | TÉMOINS                                                               |    |     |    | RÉACTION        |     |      |     |
|----------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------|----|-----|----|-----------------|-----|------|-----|
|                                              | Dosage de l'alexine du sérum suspect<br>(valeur hémolytique du sérum) |    |     |    | proprement dite |     |      |     |
|                                              | Première rangée                                                       |    |     |    | Deuxième rangée |     |      |     |
|                                              | I                                                                     | II | III | IV | I'              | II' | III' | IV' |
| Eau physiologique .....                      |                                                                       | 2  | 2   | 2  |                 |     |      |     |
| Emulsion d'antigène titré :                  |                                                                       |    |     |    |                 | 2   | 2    | 2   |
| Emulsion d'antigène diluée<br>dix fois ..... |                                                                       |    |     |    |                 | 2   |      |     |
| Sérum suspect .....                          |                                                                       | 2  | 2   | 2  |                 | 2   | 2    | 2   |
| Etuve une heure à 37°                        |                                                                       |    |     |    |                 |     |      |     |
| Globules à 1/20° .....                       |                                                                       | 2  | 4   | 6  |                 | 2   | 2    | 4   |
| Etuve une heure à 37°                        |                                                                       |    |     |    |                 |     |      |     |

## RÉSULTATS.

La première rangée de tubes permet de voir quelle quantité de globules rouges est capable de lyser le sérum du malade.

La deuxième rangée permet de voir si le sérum envisagé garde le même pouvoir malgré la présence de l'antigène syphilitique.

Si, dans les tubes de réaction proprement dits, le complément a été dévié par l'antigène syphilitique, une discordance apparaît entre la première et la deuxième rangée, celle-ci présentant, non hémolysés, des tubes dont les témoins ont hémolysé.

*Nota.* — Si aucun des tubes témoins n'a hémolysé, c'est

que le sérum ne contient pas d'hémolysine anti-mouton ; c'est rare. Il suffit de refaire la réaction le lendemain et souvent cela « marchera ». Si non, mélanger à parties égales le sérum suspect sans complément ou sans hémolysine avec du sérum qui s'est montré négatif (mais qui s'est aussi montré anti-mouton) ; et refaire la réaction avec le sérum suspect ainsi « complémenté ».

## PRÉPARATION ET DOSAGE DES RÉACTIFS.

1) EAU PHYSIOLOGIQUE A 9 POUR 1.000.

2) GLOBULES DE MOUTON.

On recueille à l'abattoir du sang de mouton dans un flacon contenant des perles de verre. On agite pendant dix minutes pour défibriner (c'est une complication inutile de laver les globules par trois centrifugations).

On en fait une solution au vingtième :

Sang de mouton ..... 1 cc.

Eau physiologique ..... 19 cc.

On gardera la solution de globules pendant toute la durée de la réaction pour pouvoir vérifier que ceux-ci ne s'hémo-lysent pas spontanément.

3) SÉRUM DU MALADE.

Deux centimètres cubes suffisent. La réaction doit être faite autant que possible dans les quarante-huit heures, mais,

contrairement à ce que l'on dit, du sérum de quatre jours est encore utilisable s'il a été conservé au frais.

#### 4) ANTIGÈNE.

Pour les techniques au sérum non chauffé, il est indispensable de se servir d'un antigène ne contenant que des lipoides insolubles dans l'acétone. L'antigène de Noguchi est le plus recommandable, car il est plus actif sans être plus anticomplémentaire.

Voici son mode de préparation selon Tribondeau :

Cœur de veau récemment tué. Supprimer oreillettes, valvules auriculo-ventriculaires et leurs cordages.

Laver la cavité des ventricules puis la sécher.

Enlever l'épicarde avec le tissu graisseux et les vaisseaux sous-jacents.

Paroi musculaire coupée en morceaux et débitée à la hacheuse.

Additionner le hachis d'un tiers environ de son volume de sable fin bien nettoyé et séché.

Triturer à fond dans un mortier jusqu'à réduction en pulpe.

Répartir cette pulpe sablée dans plusieurs flacons.

Ajouter, en tout, 1 litre 500 d'alcool à 95° (10 cc. d'alcool par gramme de pulpe).

Les flacons ne devront pas être pleins; les boucher hermétiquement.

Mettre l'étuve à  $37^{\circ}$  pendant quinze jours en secouant deux fois par jour.

Vider les flacons sur un linge propre tenu lui-même au-dessus d'un filtre en papier. Exprimer le liquide en tordant le linge.

Le filtrat est placé (dans une large cuvette photographique de verre ou de porcelaine) à l'étuve à  $37^{\circ}$  jusqu'à dessiccation complète. Le reprendre avec de l'éther sulfurique (50 cc. environ).

Répartir en tubes à centrifugation et centrifuger de façon à se débarrasser des substances non solubles dans l'éther.

Collecter dans un verre à pied la solution éthérée provenant de la décantation des tubes.

Faire évaporer cette solution loin de toute flamme jusqu'à réduction à une dizaine de cc. de liquide fortement concentré. Pour cela, tenir le verre à pleine main pour le chauffer et, tandis qu'on lui imprime un mouvement de rotation qui fait monter l'éther en couche mince le long des parois, souffler doucement au-dessus de l'ouverture. Ajouter alors d'un seul coup 50 cc. environ d'acétone; un abondant ppté jaunâtre se forme aussitôt et tombe rapidement au fond du verre.

Décanter et rejeter l'acétone surnageante.

Récolter à la spatule de Roux le ppté déposé au fond du verre et sur ses parois; le placer sur un verre de montre

préalablement pesé et l'exprimer avec la spatule de manière à chasser le peu d'acétone qui l'imprègne encore.

Les lipoïdes obtenus ont un aspect cérumineux. Les peser. Dans un flacon bouchant à l'émeri, bien propre, bien sec, et au fond duquel on a placé des billes de verre, on verse autant de cc. d'éther sulfurique qu'il y a de fois 0,30 dans le poids des lipoïdes.

Déposer les lipoïdes contre la paroi interne de ce flacon avec la spatule de Roux.

Boucher et secouer pour dissoudre.

Mesurer dans une éprouvette graduée autant de fois 9 cc. d'alcool méthylique absolu qu'on a employé de cc. d'éther.

Verser cet alcool d'un coup dans le flacon; reboucher immédiatement et agiter fortement pendant quelques instants. Placer le flacon bien bouché à la glacière ou au frais jusqu'à ce que la solution alcoolo-éthérée de lipoïdes soit clarifiée.

La solution jaune d'or obtenue sera enfermée en ampoules scellées comme suit pour éviter l'évaporation de l'éther : Etrangler au chalumeau des tubes à essai près de leur extrémité ouverte. Les laisser refroidir, puis les mettre debout dans un récipient contenant de la glace cassée.

Verser la solution dans les tubes.

Les sceller ensuite au niveau de leur étranglement sans les sortir complètement de la glace, de façon que la chaleur ne se propage pas à l'éther et ne provoque pas un dégaze-

ment de vapeurs sous pression qui percerait le verre fondu et empêcherait la fermeture.

Gardés à la glacière ou au frais, les extraits Noguchi se conservent en ampoule indéfiniment.

Quand on met une ampoule en service, on en vide le contenu dans un petit flacon bouché hermétiquement à l'émeri, qu'on conserve au frais dans l'intervalle des réactions.

Pour l'emploi, Tribondeau le dilue à 1/60.

|            |   |                                             |
|------------|---|---------------------------------------------|
| en volumes | { | Extraits de Noguchi, 1 volume.              |
|            |   | Eau physiologique, 60 volumes.              |
| en gouttes | { | Extraits de Noguchi, 5 gouttes (V gouttes). |
|            |   | Eau physiologique, 60 gouttes (LX gouttes). |

Avant de mettre un antigène en service, il faut une fois pour toutes :

1° S'assurer qu'à dose double de la dose maxima, il n'est pas hémolytique;

2° Le doser.

Supposons donc de l'antigène de Noguchi que nous diluons à 1/60°.

1° *Vérification de l'absence de pouvoir hémolytique de l'antigène.*

Antigène dilué ..... 6 gouttes

Globules à 1/20° ..... 4 gouttes

Mettre à l'étuve une heure. Le liquide surnageant doit être incolore.

## 2° Titrage de l'antigène.

Cela consiste à chercher, au moyen d'un sérum négatif, la quantité maxima d'antigène qu'on peut employer sans qu'il soit anticomplémentaire.

On dose d'abord le complément du sérum négatif employé :

|                                   |       |   |   |   |
|-----------------------------------|-------|---|---|---|
| Sérum négatif ..                  | ..... | 2 | 2 | 2 |
| Globules à 1/20° ..               | ..... | 2 | 4 | 6 |
| Mettre à l'étuve une heure à 37°. |       |   |   |   |

Supposons que l'hémolyse soit complétée dans les tubes à 2 et 4 gouttes de globules rouges et partielle dans le tube à 6 gouttes de globulés, cela indique que les 2 gouttes du sérum employé peuvent, en une heure, hémolyser 4 gouttes de globules rouges à 1/20°. Il nous faudra donc rechercher la quantité maxima d'antigène qui ne gêne en rien cette hémolyse :

|                       |   |   |   |   |   |
|-----------------------|---|---|---|---|---|
| Sérum négatif .....   | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 |
| Antigène dilué .....  | 1 | 2 | 3 | 5 | 8 |
| Etuve une heure à 37° |   |   |   |   |   |
| Globule à 1/20° ..... | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 |
| Etuve une heure à 37° |   |   |   |   |   |

Supposons que l'hémolyse soit complète dans les tubes dans lesquels on a mis 1, 2, 3 gouttes d'antigène dilué, et partielle dans les autres. Cela indique que 5 gouttes d'antigène dilué ont une action anti-complémentaire, mais que 3 gouttes n'en ont aucune. Il est prudent de choisir en deçà et

de s'arrêter à la moitié de la dose anticomplémentaire, afin d'éviter des réactions faussement positives : on a alors toute sécurité ; et la sensibilité de la méthode n'en pâtit pas, puisqu'elle est due au dosage de l'alexine de chaque sérum mis en réaction.

L'antigène en question est dosé : la dose optima de son émulsion à 1/60<sup>e</sup> est de 2 gouttes pour 2 gouttes de sérum humain. On l'écrit sur l'étiquette de la bouteille d'antigène qui rappellera au moment de l'emploi : la dilution à faire et la quantité de dilution à employer.

## RÉSULTATS.

Ainsi exécutée, cette méthode joint, à une sensibilité extrême, une sécurité absolue et une grande facilité de lecture, grâce à la quantité de globules rouges employée.

Le tube I' (réaction fortement positive) n'hémolyse pas si on se trouve en face d'une syphilis très active : période primaire, secondaire ou période d'une recrudescence évolutive.

Ce n'est pas ici le lieu de rappeler longuement qu'un Wassermann n'est positif que si l'on a affaire à une syphilis en évolution et que l'on devra, en cas de doute, faire une réactivation.

---



## CHAPITRE II

# La Réaction de Weichbrodt

(Syphilis méningée)

---

### INDICATIONS.

Plus simple que la réaction de Guillain, elle présente la même sécurité que cette dernière pour le diagnostic de la *syphilis méningée*.

Plusieurs fois des collègues nous ont demandé de leur en indiquer la technique que l'on ne trouve pas dans la plupart des manuels courants. Aussi nous croyons bon de la transcrire ici.

### RÉACTIF CHLORURÉ MERCURIQUE.

Sublimé ..... 0 gr. 10

Eau distillée ..... 100 cc.

### TECHNIQUE.

Dans un tube à hémolyse on verse :

Réactif de Weichbrodt ..... 14 gouttes

Liquide céphalo-rachidien ..... 6 gouttes

Mélanger et observer l'aspect que prend le mélange.

## RÉSULTATS.

- a) Le mélange reste clair : Réaction négative ;
- b) Le mélange se trouble immédiatement<sup>e</sup> : Réaction fortement positive ;
- c) Le mélange se trouble après deux ou trois minutes : Réaction faiblement positive.

## INTERPRÉTATION.

Pour Guillain et Gardin, les résultats de la réaction de Weichbrodt sont *toujours* identiques à ceux de la réaction de Guillain. Voici donc une réaction commode qui mérite d'être largement employée.

---

### CHAPITRE III

## La Réaction de Pandy

(Etats méningés)

---

#### INDICATIONS.

La réaction de Pandy est loin de présenter l'intérêt de la réaction de Weichbrodt. Mais comme on a parfois quelque peine à en trouver la technique, nous la résumons rapidement.

Elle a pour but, en présence de liquide céphalo-rachidien clair, de diagnostiquer une méningite d'un état méningé.

#### RÉACTIF PHÉNIQUE.

Acide phénique cristallisé ..... 10 gr.

Eau distillée ..... 150 cc.

#### TECHNIQUE.

Elle ressemble à celle de la réaction de Rivalta. Dans un tube (à hémostase ou à essais), on verse un ou deux cc. de réactif de Pandy. Puis on laisse tomber une goutte de liquide céphalo-rachidien non souillé de sang.

## RÉSULTATS.

- a) Le mélange reste limpide : Réaction négative (liquide C.R. normal ou méningisme);
- b) Le liquide céphalo-rachidien en tombant prend l'aspect de spirales de fumée de cigarette : Réaction positive (méningite vraie).

La réaction est négative dans l'encéphalite épidémique.

---

## CHAPITRE IV

# Comment déterminer les qualités des systèmes optiques d'un microscope

---

Lorsqu'on choisit un microscope, on manque souvent des éléments nécessaires pour faire un choix rationnel.

Nous rassemblons ci-après les renseignements permettant de s'arrêter à bon escient sur l'appareil qui présente les qualités désirées. Ceux qui souhaitent une documentation plus vaste travailleront avec profit le chapitre consacré à cette question dans le « Précis de microscopie » de notre Maître M. le Docteur M. Langeron.

### DIVISION.

On peut ranger sous trois chefs les caractéristiques d'un système optique :

- 1° Le grossissement ;
- 2° Le pouvoir séparateur ;
- 3° Le pouvoir de définition.

Nous négligeons le pouvoir dit pénétrant qui, étant en raison inverse du pouvoir séparateur ne saurait nous intéresser,

Pour chaque caractéristique, nous indiquons d'abord le moyen d'appréciation théorique à l'aide des indications fournies par le fabricant, puis, pour le cas où ces éléments manqueraient (objectif ou oculaire sans marque par exemple), le moyen de vérification pratique.

## GROSSISSEMENT.

### CALCUL THÉORIQUE.

#### A) *Grossissement des objectifs.*

Le grossissement propre d'un objectif est donné par la formule :

$$G = \frac{250\text{mm} (= \text{vision distincte de l'œil})}{\text{distance focale de l'objectif en mm.}}$$

Cette distance focale est indiquée sur le catalogue du fabricant et parfois sur l'objectif lui-même.

Les objectifs à immersion sont dénommés par leur distance focale en pouce :  $\frac{1}{12^e}$   $\frac{1}{16^e}$  de pouce, le pouce anglais étant égal à 25 mm. 4.

Les meilleurs objectifs à sec sont le 2, le 4, le 7 ; le 8 n'est pas assez lumineux.

#### B) *Grossissement total.*

Il est égal au grossissement propre de l'objectif multiplié par le numéro de l'oculaire compensateur employé (habituellement le  $\times 6$  ou le  $\times 9$ ).

Les oculaires compensateurs sont faits pour les objectifs apochromatiques, mais ils donnent de bons résultats avec les objectifs à immersion (surtout ceux de étiassnie faiblement compensateurs).

Pour le grossissement, la correspondance est la suivante entre les oculaires de Huygens et les oculaires compensateurs :

| Numéros des oculaires<br>de Huygens | Numéros des oculaires compensateurs<br>(= grossissement des oculaires) |
|-------------------------------------|------------------------------------------------------------------------|
| O .....                             | × 4                                                                    |
| I .....                             | × 5                                                                    |
| II .....                            | × 6                                                                    |
| III .....                           | × 8                                                                    |
| IV .....                            | × 10                                                                   |
| V .....                             | × 12                                                                   |

L'oculaire compensateur × 18 et l'oculaire de Huygens V donnent un fort grossissement commode pour des numérations ou des mesures, mais l'image n'est pas nette : ils diminuent la définition et n'augmentent pas la résolution.

Notons en passant que le myope regarde sans lorgnon, l'hypermétrope et le presbyte avec leurs verres puisque l'on a intérêt à diminuer le minimum de la vision distincte.

## VÉRIFICATION PRATIQUE.

Celle-ci peut se faire avec la chambre claire, procédé bien connu qu'il nous suffira de rappeler.

On place sur la platine du microscope un micromètre objectif (1 mm. divisé en centièmes) et au moyen de la chambre claire, on en dessine, sur une feuille de papier, les divisions telles qu'elles apparaissent avec le système optique employé.

On mesure exactement la grandeur des divisions ainsi dessinées sur le papier.

Le rapport :

$$\frac{\text{Grandeur apparente}}{\text{Grandeur réelle.}} = \text{Grossissement.}$$

A défaut de micromètre objectif, un objet de grandeur connue (globule rouge = 7  $\mu$ , 5) peut à la rigueur faire l'affaire.

## POUVOIR SÉPARATEUR DES OBJECTIFS.

### APPRÉCIATION THÉORIQUE.

Le pouvoir séparateur, ou pouvoir résolvant, ou pouvoir de résolution permet de percevoir les détails.

La limite de résolution est *proportionnelle à l'ouverture numérique*, et indépendante du grossissement. Pour avoir un grand pouvoir de résolution, il faut donc choisir des objectifs à grande ouverture numérique : entre deux objectifs de marque différente, on choisira celui dont le constructeur annonce le plus grand angle d'ouverture.

Notons qu'on peut augmenter le pouvoir de résolution en employant :

Une lumière monochromatique de faible longueur d'onde (lumière bleue);

Une lumière oblique par décentrement du diaphragme (l'éclairage oblique double le pouvoir résolvant d'un objectif).

Notons aussi que le pouvoir séparateur des objectifs apochromatiques n'est pas supérieur à celui des bons objectifs achromatiques.

#### VÉRIFICATION PRATIQUE.

##### *Contrôle direct du pouvoir résolutif au moyen des tests.*

a) *Pleurosigma angulatum* : forme un réseau de lignes transversales et obliques écartées de  $0\mu, 5$ . Avec un objectif à sec donnant 500 diamètres, on ne voit bien les trois systèmes de stries qu'à l'éclairage oblique. Avec un bon objectif à immersion, on doit les résoudre à l'éclairage central.

b) *Surirella gemma* : ses lignes parallèles sont espacées de  $0\mu, 44$ . On peut les résoudre avec un bon objectif à sec de grossissement propre 500 et l'éclairage oblique, ou un bon objectif à immersion et l'éclairage direct.

Avec les plus forts objectifs à immersion, ces lignes apparaissent formés de petites perles ovales de  $0\mu, 44$  sur  $0\mu, 38$ .

*Contrôle indirect du pouvoir séparateur par la vérification pratique de l'angle d'ouverture (Langeron).*

On se sert du *pleurosigma angulatum*. Après mise au point, ce test devra montrer, en enlevant l'oculaire, 6 spectres

de diffraction en rosace correspondant aux trois sortes de stries. La présence et la régularité de la disposition de ces spectres permet de conclure à la qualité de l'objectif. Il faut mettre le diaphragme à l'ouverture optima. Généralement, on ne voit que la portion violette et bleue des spectres; mais plus les spectres sont complets, plus l'ouverture numérique est grande (laissant passer des faisceaux très diffractés), et en définitive plus la résolution est parfaite.

#### POUVOIR DE DÉFINITION.

Il tient sous sa dépendance la faculté de fournir des images à contour net. Il dépend de la correction des aberrations (surtout chromatique) et ne se traduit pas par une formule.

#### CONTROLE DU POUVOIR DE DÉFINITION.

On doit distinguer les stries des écailles des ailes de *Culex*, le flagelle, le blépharoplaste, le noyau du *Trypanosoma Lewisi* ou *Brucei*, les granulations de Schüffner du *Plasmodium vivax*, les stries longitudinales hérissées de cils du *Balantidium coli*.

---

## CHAPITRE V

# La Coloration de Giemsa et le Colorant de Giemsa original <sup>(1)</sup>

---

Les hématologistes s'accordent à considérer la coloration panoptique au May-Grünwald Giemsa comme étant le procédé de choix pour la coloration des granulations leucocytaires. Pour obtenir de beaux résultats, il faut néanmoins bien posséder la méthode, et il n'est pas toujours facile d'obtenir un fond pur, indemne des moindres traces de précipité.

Mais dans la pratique courante, lorsqu'on a de nombreux examens à exécuter, il faut simplifier: le Giemsa seul donne des résultats aussi bons, à peu de choses près. Bien qu'il soit connu de tous, nous en rappelons brièvement les différents temps, pour rendre plus claires les explications concernant le procédé initial de Giemsa.

### RÉACTIFS.

1° Alcool absolu.

2° Dans un flacon compte-gouttes, du Giemsa de Grü-

---

(1) Voir aussi : E. LEMAIRE. Le colorant de Giemsa original. Communication à la séance du 7 novembre 1929 de la Société de Médecine et d'Hygiène tropicales.

bler, le seul — c'est un fait — qui donne de bonnes colorations.

3° Eau distillée neutre. L'eau distillée doit son acidité à l'acide carbonique qu'elle contient en dissolution : il suffit d'ordinaire de la faire bouillir 10 minutes pour qu'elle devienne neutre. Comme indicateur coloré, on versera quelques gouttes de solution alcoolique de rouge de phénol (plus sensible que le rouge neutre). Il est :

jaune en milieu acide

orangé en milieu neutre

rose en milieu alcalin.

S'il est nécessaire, on ajoutera quelques gouttes d'une solution étendue de soude ou de carbonate de soude. On se rappellera avec profit qu'il vaut mieux une eau un peu alcaline qu'une eau un peu acide.

On prépare extemporanément le colorant avec une goutte de Giemsa par centimètre cube d'eau distillée mesurée dans une petite éprouvette.

## TECHNIQUE.

### 1° FIXATION A L'ALCOOL ABSOLU.

Ne pas prolonger la fixation au-delà d'une minute (Schüffner) sous peine d'abimer les granulations.

### 2° COLORATION.

On verse approximativement 2 cc de colorant pour re-

couvrir la lame ; ou bien on immerge celle-ci dans une cuve à coloration.

Durée minima 20 minutes.

optima 30 à 45 minutes.

### 3° LAVAGE.

Court, à l'eau de robinet, ou mieux à l'eau distillée.

### 4° SÉCHAGE.

Rapide, par agitation, sans chauffer.

## *LE COLORANT DE GIEMSA ORIGINAL*

Le Giemsa du commerce est un éosinate d'azur en solution stabilisée dans un mélange d'alcool méthylique, de glycérine et d'eau.

Le colorant acide (éosine) colore en rouge, le colorant basique (azur) en bleu, et le colorant neutre (éosinate d'azur) en violet.

Mais le procédé initial employé par Giemsa avant d'être exploité commercialement, comportait l'emploi de deux solutions aqueuses stables, l'une d'éosine, l'autre d'azur, à mélanger extemporanément.

Cette formule est aujourd'hui méconnue et Giemsa lui-même, dans son dernier livre sur les colorants, la passe sous silence. Nous avons eu l'occasion, au cours d'un récent voyage d'études, de prendre connaissance de ce procédé, de l'expérimenter, et de l'apprécier. Le voici :

## RÉACTIFS.

### SOLUTION A :

Eosine B extra de Grüber ..... 0 gr. 05

Eau distillée neutre ..... un litre

Il est indispensable de se servir d'éosine B extra de Grüber et non d'éosine AG de Grüber qui est celle fournie habituellement et ne convient pas du tout dans le cas particulier.

### SOLUTION B :

Azur II de Grüber ..... 0 gr. 80

Eau distillée neutre ..... un litre

Pour l'emploi, mélanger extemporanément dans une petite éprouvette, ou mesurer au moyen de pipettes ce qui est plus précis :

Solution A ..... 8 cc. 5

Solution B ..... 1 cc. 5

Utiliser pur. Ces quantités ne sont pas immuables, et il est bon de préciser empiriquement, une fois pour toutes, les proportions optima des deux solutions employées. Parfois, les résultats sont meilleurs avec le mélange :

Solution A ..... 9 cc.

Solution B ..... 1 cc.

## TECHNIQUE.

### 1° FIXATION.

Alcool absolu : une minute.

### 2° COLORATION.

C'est un colorant lent qui nécessite 30 à 45 minutes, mais, en matière de colorants, disait un de nos maîtres, comme en matière de révélateurs photographiques, les réactifs lents sont ceux qui donnent le plus de relief, de pureté et de finesse » Si l'on prolonge la coloration pendant une heure en renouvelant plusieurs fois le colorant, on obtient le maximum d'intensité.

### 3° LAVAGE ET SÉCHAGE.

Rapides comme à l'ordinaire. Le lavage à l'eau distillée est de beaucoup préférable.

## RÉSULTATS.

Le résultat est très supérieur à ceux obtenus avec les autres procédés de coloration, notamment avec le Giemsa commercial. Le fond de la préparation est d'une pureté inégalable avec les autres colorations dérivées du Romanowsky.

Ce procédé est, de plus, d'un prix de revient extraordinairement bas, ce qui mérite aussi d'être pris en considéra-

tion lorsqu'on pratique des examens en très grand nombre.

Pour la coloration des gouttes épaisses, la même solution convient : il suffit de ne pas fixer la préparation, et il n'est même pas indispensable de déshémoglobiner à l'eau distillée avant la coloration.

---

## CHAPITRE VI

# Comment réunir à coup sûr les Coupes histologiques

---

Les différents modes d'inclusion ne donnent d'excellents résultats que s'ils sont exécutés par quelqu'un en possédant bien la technique et y consacrant les soins et le temps nécessaires.

Nous indiquons ici la méthode d'inclusion à l'essence de cèdre qui ne nécessite qu'un minimum de manipulations et donne des résultats constants : elle réussit à tout coup, même si l'on oublie de passer à temps la pièce d'un flacon de réactif dans le flacon suivant. Avec cette méthode, on ne connaît pas les insuccès relatifs inexpliqués que l'on a parfois de temps à autre avec les autres procédés.

### EXÉCUTION DE LA COUPE.

#### FIXATION.

La pièce, qui autant que possible n'aura pas plus de 1 cm. de côté, est mise à fixer 24 à 48 heures dans le liquide de Bouin :

Solution aqueuse saturée d'acide picrique : 30 cc.

Formol à 40 % ..... 10 cc.

Acide acétique cristallisable ..... 2 cc.

On peut y laisser la pièce trois jours, mais huit jours est un grand maximum.

#### DÉSHYDRATATION.

Passer la pièce successivement :

6 heures dans l'alcool lithiné pour décolorer l'acide picrique :

Alcool à 90° ..... 50 gr.

Carbonate de Lithium ..... 5 gr.

12 heures dans l'alcool à 90° (n° 1).

12 heures dans l'alcool à 90° (n° 2).

12 heures dans l'alcool absolu.

#### INCLUSION.

12 heures dans l'essence de cèdre (jusqu'à ce que la pièce soit transparente et tombe au fond) ; elle peut d'ailleurs y rester indéfiniment.

12 heures dans la paraffine neuve à 54° (la renouveler au bout de deux fois).

12 heures dans la paraffine à 54° (qui peut être vieille).

Couler le bloc et l'orienter ; procéder à un prompt refroidissement dans l'eau dès qu'une pellicule est solidifiée à la surface.

## COUPES AU MICROTOME.

Attendre pour cela que le bloc soit entièrement refroidi. Débitier des coupes au deux centièmes de millimètre, soit 5  $\mu$ , ce qui est d'ordinaire assez fin. Si le ruban ne se forme pas bien, envoyer de la buée sur lui. Si l'on ne dispose pas de microtome de Minot, on peut se contenter du microtome de Ranvier, mais il nécessite une très grande dextérité.

## COLLAGE.

Sur la lame, verser quelques gouttes d'eau albumineuse à 3 %.

Appliquer le côté brillant du ruban (côté du rasoir) sur la lame.

Eponger l'excédent d'eau albumineuse, chauffer légèrement sur la platine.

Sécher à l'étuve pendant vingt-quatre heures.

## COLORATION DES COUPES.

Depuis qu'elle nous a été enseignée par M. Langeron, nous nous servons presque exclusivement de la méthode à l'hémalun-éosine.

## TEMPS PRÉPARATOIRE.

Coaguler l'albumine par un léger chauffage jusqu'à commencement de la fusion de la paraffine.

Déparaffiner la coupe par passages successifs dans les

toluènes 1 et 2 et alcools 1 et 2, lesquels tubes ne servent que pour déparaffiner.

Plonger la lame dans un cristalliseur d'eau ordinaire afin d'hydrater la coupe et la rendre prête à la coloration.

#### COLORATION A L'HÉMALUN.

Durée 5 ou 10 minutes. Au sortir de l'hémalun, laver la coupe dans le cristalliseur plein d'eau et attendre que la coloration rougeâtre de la coupe ait *viré* au bleu noir.

#### COLORATION DU FOND A L'ÉOSINE.

Quelques gouttes pendant deux minutes, puis lavage à l'eau.

#### DÉSHYDRATATION.

Doit être faite soigneusement.

Bien essuyer le dessous de la lame, puis verser à trois reprises :

1° Quelques gouttes d'alcool à 95° ;

2° Quelques gouttes d'alcool absolu.

#### ECLAICISSEMENT.

Aussitôt, plonger la coupe dans un tube de xylol pur. Si la coupe est bien déshydratée, le xylol ne doit pas se troubler. Si le xylol devient laiteux, traiter de nouveau la coupe par l'alcool absolu.

## MONTAGE AU BAUME DU CANADA.

Déposer une petite goutte sur la lame, une autre sur une lamelle bien propre et recouvrir la préparation.

Pendant toutes ces opérations, la coupe ne doit *jamais sécher*.

---



## CHAPITRE VII

# Mesure de l'Index opsonique

---

### INDICATIONS.

L'index opsonique fournit le moyen commode de vérifier l'efficacité des injections de vaccin, de choisir la quantité optima à injecter et de fixer l'intervalle le meilleur entre chaque injection. Il ne s'agit pas là d'une acquisition nouvelle de la science, mais comme la technique n'est pas indiquée clairement partout, nous croyons utile de la décrire ici. Pour les détails complémentaires, on pourra s'adresser au livre de M. Gaultier : « les opsonines et la thérapeutique opsonisante » dans lequel nous avons largement puisé.

Le *pouvoir phagocytaire* du sérum est le nombre moyen de microbes englobés par un leucocyte dans un temps donné. Mais ce chiffre n'a par lui-même aucune valeur s'il n'est comparé à celui obtenu avec du sérum normal, toutes les autres conditions de l'expérience restant les mêmes.

On donne le nom d'*index opsonique* au rapport du pouvoir phagocytaire ou opsonique d'un sérum suspect à celui du sérum d'un individu sain.

## RÉACTIFS.

Il est nécessaire de disposer des objets suivants :

Sérum physiologique ;

Solution de citrate de soude ;

Sérum normal ;

Emulsion de microbes ;

Leucocytes.

1° *Sérum physiologique* à 9 pour 1000, stérilisé qu'il est commode de garder en ampoules.

2° *Solution de citrate de soude.*

|                          |           |
|--------------------------|-----------|
| Chlorure de sodium ..... | 9 grammes |
|--------------------------|-----------|

|                        |            |
|------------------------|------------|
| Citrate de soude ..... | 15 grammes |
|------------------------|------------|

|           |               |
|-----------|---------------|
| Eau ..... | 1.000 grammes |
|-----------|---------------|

3° *Sérum du malade.* — On prélève du sang du malade. Nous indiquons au cours de ce travail un procédé qui permet de faire une « prise de sang » sans avoir recours à la ponction veineuse. Une faible quantité de sang suffit ; on laisse coaguler et on centrifuge ce qui permet de recueillir facilement le sérum surnageant au moyen d'une pipette.

4° *Sérum normal.* — Il se prépare de façon identique au précédent et, comme lui, doit être prélevé extemporanément, le pouvoir opsonique baissant au bout de deux ou trois heures.

De plus les sérums doivent être fournis par des individus à jeun.

5° *Emulsion microbienne.* — On se sert d'une culture jeune de 24 heures sur gélose. Si l'on fait un auto-vaccin au malade, il est tout indiqué de repiquer sur gélose la « souche » qui a servi à la préparation du vaccin. On prélève avec un fil de platine « une anse » de culture que l'on délaie dans 2 cc. d'eau physiologique. Cette émulsion doit être à peine opalescente et ne pas donner au microscope d'amas microbiens ou d'« agglutination spontanée ».

6° *Prélèvement, lavage et émulsion des leucocytes.* — La préparation des leucocytes est le temps délicat de l'opération :

Dans un tube à centrifuger contenant 10 cc. environ de la solution citratée, on recueille par piqûre profonde du doigt 40 ou 50 gouttes de sang. On mélange par agitation puis on centrifuge un quart d'heure environ.

Après centrifugation, on retire le liquide surnageant à l'aide d'une pipette, sans toucher au culot; on ajoute de l'eau physiologique neuve, on centrifuge à nouveau, etc...

Au bout de trois centrifugations, les globules sont « lavés » : on retire l'eau salée. Les leucocytes constituent (mêlangés à quelques hématies) la couche blanchâtre qui forme la partie supérieure du caillot.

## TECHNIQUE.

On procède concurremment pour le sérum à examiner et pour le sérum témoin.

On prend une pipette ordinaire, on en casse la pointe, et sur l'extrémité effilée, on marque (à la lime, à l'encre ou au crayon gras) un trait à une distance d'environ 2 cm. du bout. Il s'agit de mélanger à parties égales : les leucocytes, le sérum dont il s'agit de déterminer le pouvoir opsonique, et les microbes.

1° On aspire une première colonne de leucocytes dont la hauteur s'arrête au trait marqué, et on laisse pénétrer une petite bulle d'air.

2° On aspire à la suite, toujours jusqu'au trait, une colonne du sérum (malade ou témoin) et on laisse de nouveau pénétrer une bulle d'air.

3° On aspire enfin une troisième colonne identique de l'émulsion microbienne.

Pour réaliser un mélange intime, on repousse et on aspire à plusieurs reprises sur une lame le contenu de la pipette. On le réaspire enfin, on ferme la pipette à la lampe (côté effilé seulement) et on la place à l'étuve à 37° pendant un quart d'heure. Au bout de ce temps, on « fait des lames » avec le contenu de chaque pipette : on dépose une goutte du liquide et, au moyen d'une lamelle, on procède à l'étalement comme pour un examen de sang. On sèche par agitation, on fixe à l'alcool-éther et on colore au bleu de méthylène, à la thionine phéniquée, au bleu de toluidine ou au Giemsa.

## NUMÉRATION DES MICROBES PHACOCYTES.

Tout comme si l'on faisait une formule leucocytaire, on examine la lame à l'immersion. A chaque leucocyte rencontré, on note le nombre de microbes qu'il renferme, à la suite du chiffre précédent, sur une même ligne, en le séparant par le signe + quand on a 10 chiffres, on les additionne et on recommence une nouvelle ligne dont on inscrit la somme au-dessous de la somme de la ligne précédente.

Cette manière d'inscrire les résultats rend moins désagréable ce travail fastidieux de comptabilité. Quand on a rempli 3 ou 5 lignes, c'est-à-dire que l'on a passé en revue 30 ou 50 globules blancs, on fait le total général (duquel on peut déduire en ramenant 100 leucocytes ou à 1 leucocyte, le pouvoir absonique du sérum envisagé).

## RÉSULTAT.

Nous avons dit en débutant que le rapport du pouvoir absonique d'un sérum suspect, au pouvoir apsonique d'un sérum normal est l'index apsonique.

Elevé, c'est-à-dire plus grand que 1, il indique que le sujet en cause se défend victorieusement contre le microbe employé pour faire la réaction. Si l'index est inférieur à l'unité, il faut en déduire que le sujet est en état de moindre résistance vis-à-vis du microbe en question.

Mais ce qui est surtout intéressant, c'est d'établir une courbe inscrite en mesurant chaque jour l'index apsonique.

Après une seule injection correcte de vaccin, l'index baisse tout d'abord (phase négative), remonte à l'unité après 48 heures, et dépasse l'unité (phase positive), atteignant son maximum le 8<sup>e</sup> jour, pour redevenir normal au bout d'une dizaine de jours. On conçoit par conséquent que si une nouvelle injection de vaccin est faite trop tôt, elle ajoute sa phase négative à celle de l'injection précédente, et il peut en résulter non pas une vaccination, mais une sensibilisation.

De même, après une injection trop forte de vaccin, la phase négative peut être anormalement intense et prolongée et n'est suivie que d'une phase positive faible et courte.

Il est également de toute évidence qu'une dose trop faible de vaccin ne sera suivie que d'une phase positive à peine perceptible.

---

## CHAPITRE VIII

# Mesure de la Viscosité sans Viscosimètre

---

### INDICATIONS.

La recherche de la viscosité sanguine, trop souvent négligée, nous paraît indispensable dans l'examen de certains malades.

La viscosité peut être augmentée par la polyglobulie, l'hyperglycémie ou l'uricémie (1). Or, sa mesure présente un gros intérêt pratique : Martinet a insisté sur la viscosité sanguine des hypertendus. Augmentée (chez les pléthoriques), elle engage le médecin à prescrire des iodures ; diminuée (chez les hydrémiques), elle indique l'utilité de la restriction des boissons.

Nous nous rappelons un malade, fortement hypertendu « idiopathique », sans le moindre signe de néphrite, à Wassermann négatif... et à tension irréductible. Un jour, nous eûmes la curiosité de prendre sa viscosité (7,5), et l'administration de citrate de soude nous permit de succès rapide.

---

(1) L'hyperviscosité coïncide alors avec l'augmentation de l'indice réfractométrique.

De même, à moins d'avoir la main forcée, un chirurgien n'opèrera un fibrome qu'après avoir fait baisser, de crainte d'embolie, l'index viscosimétrique à un taux voisin de la normale.

## PRINCIPE.

La poire de l'appareil de Hess (tube capillaire en U), aspire dans une branche de l'eau distillée et dans l'autre une goutte de sang. On a, par lecture directe, le rapport de la viscosité du sang à celle de l'eau distillée.

Mais l'appareil de Hess coûte cher : rares sont les laboratoires et les médecins qui en possèdent un, et il n'y faut voir d'autre raison pour laquelle, malgré son intérêt, la méthode n'est pas appliquée couramment.

Après avoir essayé 5 ou 6 manières possibles de mesurer la viscosité sanguine, nous nous sommes arrêté à la suivante qui est la plus simple : la progression de l'eau et du sang dans leurs tubes capillaires respectifs est assurée par la force d'inertie.

## MATÉRIEL.

1° *Deux tubes capillaires* rigoureusement cylindriques, de diamètre gros (1<sup>mm</sup> ou 1<sup>mm</sup>,5 environ), semblables et longs de 15 ou 20 centimètres. On les réalisera en chauffant un tube à pipettes sur un bec Bunsen, en sortant le tube de la flamme et en l'étirant assez lentement, pour obtenir une effi-

lure de 30 ou 40 cm. C'est la difficulté du procédé : un opérateur pas trop maladroit, disposant de verre tendre, les réussira correctement après une dizaine d'essais. On coupe la partie étirée au milieu.

Il faut rejeter impitoyablement les tubes capillaires non identiques (1).

2° *Eau*. — Dans une capsule ou un verre de montre, mettre quelques centimètres cubes d'eau à laquelle on ajoute deux ou trois gouttes de bleu de méthylène, mais pas trop, car l'alcool du colorant fausserait le résultat et ferait croire à une viscosité sanguine exagérée.

3° *Le sang* à examiner, le sujet étant à jeun, s'obtient au dernier moment par piqûre du doigt ou mieux du lobe de l'oreille, nettoyé à l'éther. Absorber avec du buvard la première goutte, car elle contient de la lymphe. Ne pas exprimer pour obtenir le sang : il doit sourdre de lui-même, sinon, refaire une piqûre plus profonde. Prélever la goutte de sang immédiatement, car bientôt la viscosité va augmenter jusqu'au moment de la coagulation.

## TECHNIQUE.

1° Tremper le bout d'un tube capillaire (*bout central*) dans l'eau, colorer et le retirer dès qu'il a aspiré un index de 1 cm,5 ou 2 cm de longueur.

---

(1) On peut d'ailleurs employer deux tiges de thermomètre à alcool identiques qui serviront indéfiniment.

2° Reporter sur le *bout homologue* de l'autre tube capillaire la même longueur que l'on marque, avec une plume, d'un repère.

3° Tremper le bout de ce deuxième tube dans la goutte de sang, et le retirer dès que le sang a monté jusqu'au repère.

On a donc dans chaque tube un index de même longueur, l'un d'eau, l'autre de sang.

4° Prendre à la fois les deux tubes capillaires entre le pouce et l'index; les retourner pour mettre les index de liquide en haut, et les tenir dans une *rigoureuse verticalité*. Les secouer en frappant plusieurs fois la table du talon de la main ou de l'extrémité distale des tubes, pour faire descendre les index: la descente est fonction de l'inverse de la viscosité.

5° Arrêter la manœuvre quand l'index d'eau colorée a franchi 12 ou 15 centimètres ou lorsqu'il s'approche de la portion distale du tube capillaire suspecte d'avoir un diamètre en progression.

Marquer avec une plume, sur chaque tube capillaire, l'endroit où l'extrémité proximale de l'index s'est arrêtée, et mesurer, au mm. près, l'espace parcouru depuis le bout du tube capillaire.

## RÉSULTATS.

Longueur parcourue par l'index d'eau =  
 Longueur parcourue par l'index de sang  
 = index viscosimétrique du sang examiné.

C'est aussi simple et presque aussi vite fait qu'avec le viscosimètre de Hess.

Mais pour avoir un résultat exact, il faut :

1° Deux tubes capillaires régulièrement calibrés et identiques.

2° Eviter les bulles.

3° Eviter les tubes capillaires de diamètre trop fin, dans lesquels le sang ne progresserait pas du tout, ce qui donnerait un index viscosimétrique faussement élevé.

## INTERPRÉTATION.

Viscosité normale : 3,8 à 4,5.

augmentée : de 5 à 7.

diminuée : au-dessous de 3,8.

Nous avons déjà dit dans quelles conditions on pouvait observer des modifications de la viscosité.

Rappelons que Josué tenait à une précision de plus :

$$\frac{\text{Viscosité totale}}{\text{Viscosité globulaire}} = \text{viscosité plasmatique.}$$

Cette formule ne présente pas un gros intérêt, car dans la dynamique circulatoire, la seule chose qui compte, nous semble-t-il, c'est la viscosité totale du sang.

---



## CHAPITRE IX

# Comment se passer de Réfractomètre

---

### INDICATIONS DE LA RÉFRACTOMÉTRIE.

L'indice réfractométrique sert à mesurer l'état de « dilution » du sang.

Sa recherche présente une réelle importance dans quelques circonstances, par exemple si l'on étudie le syndrome chlorurémique ou la pathogénie de certains œdèmes.

Mais le réfractomètre est un instrument coûteux : aussi la réfractométrie est-elle négligée.

### PRINCIPE.

On peut tourner la difficulté en mesurant *l'albuminémie* ou quantité d'albumine par litre de sang, de laquelle une simple soustraction permet de déduire *l'hydrémie* ou quantité d'eau contenue dans un litre de sang.

### TECHNIQUE.

On fait une saignée au malade en recueillant le sang sur quelques parcelles de fluorures de sodium. Ceci per-

met de mesurer avec exactitude 100 cc. de sang que l'on verse dans une capsule tarée.

On place celle-ci à l'étuve à 102° pour obtenir une évaporation rapide et on pèse.

#### RÉSULTAT.

*Avec ce procédé*, on trouve normalement un résidu (formé par les albumines et les autres substances organiques et minérales) de 10 ou 12 grammes pour 100, soit 100 ou 120 par litre et, partant, une hydrémie de 880 à 900 gr.

Si par exemple, on trouve une hydrémie de 920, on a affaire à une rétention hydrique manifeste.

---

## CHAPITRE X

# Temps de sédimentation globulaire

---

### INDICATIONS.

Cette recherche a pris ces dernières années droit de cité dans les épreuves rituelles auxquelles on soumet les tuberculeux pulmonaires. Elle n'a rien de spécifique, mais peut rendre de grands services en raison de sa simplicité.

Nous pensons qu'une seule épreuve est sujette à caution, mais nous sommes partisan de la répéter tous les mois et de faire un graphique. Il a une valeur pronostique incontestable : ses variations précèdent de plusieurs jours ou semaines les modifications cliniques, bactérioscopiques et radiologiques. C'est donc un élément d'information qui vaut ce qu'il vaut, mais qui mérite, vu sa simplicité extrême de prendre place à côté des autres.

\* Nous indiquons pour sa mesure la méthode de Linzenmeier.

### MATÉRIEL.

Seringue de 1 cc.

Solution de citrate de soude à 4 % en ampoules stériles.

Tubes de Linzenmeier que l'on exécute soi-même très facilement, de la façon suivante. On choisit un tube à hémolyse de 4 mm. de diamètre environ. On le jauge à 1 cc. avec un trait de lime et au-dessous de ce trait, on en marque un autre à 18 mm. de lui.

### TECHNIQUE.

Prendre dans la seringue :

Solution de citrate de soude ..... 0 cc. 2

Sang ..... 0 cc. 8

Mélanger sans agiter et verser dans un tube de Linzenmeier que l'on place dans une rigoureuse verticalité.

On note le temps nécessaire pour que le niveau supérieur des globules rouges descende de 18 mm.

### RÉSULTATS.

Avec ce procédé :

Normalement, T. S. = 250 minutes, soit un peu plus de 4 heures.

Dans les pyrexies, T. S. = 30 à 50 minutes.

Dans la tuberculose pulmonaire évolutive, T. S. = 20 à 25 minutes.

Dans les formes fibreuses, le T. S. est beaucoup moins court.

---

## CHAPITRE XI

# La recherche des groupes sanguins

---

C'est un devoir absolu de n'entreprendre une transfusion que si l'on s'est, au préalable assuré de la compatibilité des globules du donneur avec le sérum du receveur.

Nous nous servons d'ordinaire de la méthode directe que nous rappellerons rapidement.

### RÉACTIFS.

1° Quelques gouttes de sérum du receveur séparé par centrifugation, ou en attendant la rétraction du caillot.

2° Une goutte de sang du donneur éventuel, prélevée par piqûre du doigt.

3° Solution de citrate de soude isotonique à 4 % en ampoules stériles.

### TECHNIQUE.

Sur une lame dégraissée à l'éther et passée à la flamme, on verse :

|                                |          |
|--------------------------------|----------|
| Citrate de soude .....         | 1 goutte |
| Sérum du receveur .....        | 1 goutte |
| Sang du donneur éventuel ..... | 1 goutte |

On observe le résultat pendant deux ou trois minutes en remuant la lame.

## RÉSULTATS.

a) Le mélange reste homogène : compatibilité.

b) Il y a agglutination : il se forme des grumeaux denses, analogues à de la brique pilée, au sein d'un liquide clair ; les globules du donneur ne conviennent pas.

## LA MÉTHODE DES TROIS GOUTTES MODIFIÉE

Il nous est arrivé, pour une transfusion chirurgicale de toute urgence de n'avoir pas le temps matériel de prélever du sang du blessé et d'en séparer le sérum.

Nous ne nous sommes pas cru autorisé pour cela à nous lancer à l'aveugle dans une transfusion. Nous nous sommes donc servi de l'épreuve dite « des trois gouttes », modifiée comme nous allons le dire, afin de savoir, en cas d'agglutination, quels sont les globules qui agglutinent : ceux du donneur ou ceux du receveur.

## TECHNIQUE.

Sur une lame, on verse :

|                                      |             |
|--------------------------------------|-------------|
| Solution isotonique de citrate ..... | I goutte    |
| Sang du récepteur .....              | I goutte    |
| Sang du donneur éventuel .....       | III gouttes |

## RÉSULTATS.

a) S'il n'y a pas d'agglutination, il y a compatibilité complète des deux systèmes sérums-globules.

b) S'il y a agglutination de quelques globules, ce sont ceux du récepteur qui sont agglutinés par le sérum du donneur : on peut néanmoins faire la transfusion.

c) S'il y a agglutination de nombreux globules, ce sont ceux du donneur qui sont agglutinés par le sérum du récepteur : la transfusion est formellement contre-indiquée.

---



## CHAPITRE XII

# La Transfusion sanguine

---

Nous avons essayé tous les procédés depuis le matériel de Jeanbrau et celui de Jubé jusqu'à la technique très « poste de secours » des trois seringues de Béraud.

Etant donné que les physiologistes nous apprennent que le sang citraté possède les mêmes qualités biologiques que le sang frais, nous jugeons inutile de nous priver de cet élément de commodité qu'est l'anti-coagulant.

Nous nous sommes arrêté au procédé de Guttmann qui, sans matériel, donne une sécurité que seule la pratique prolongée des transfusions peut faire apprécier à sa juste valeur. Avec lui, on peut même se passer d'aide.

### 1<sup>er</sup> TEMPS : PRÉPARATION DU RÉCEPTEUR.

On prépare ce qu'il faut pour faire une injection intra-veineuse de sérum :

Une ampoule stérile de 300 ou 500 cc. de sérum glucosé isotonique ;

Un tube de caoutchouc de 1 m. 50 de longueur bouilli

dans de l'eau physiologique. Il doit être muni d'un embout ordinaire de seringue à l'une de ses extrémités.

Une aiguille pour injection intraveineuse.

On installe donc cette injection intraveineuse de sérum glucosé : on gradue à volonté la rapidité d'écoulement par le degré d'élévation de l'ampoule ; un mètre au-dessus du plan du lit est une bonne hauteur.

On peut prendre son temps : si par extraordinaire, il s'agit de veines invisibles (femme grasse), on peut posément aller dénuder la veine sous anesthésie locale. Rien ne presse : le sang du transfuseur, encore dans son système circulatoire, ne risque pas de se coaguler.

Après s'être assuré que l'aiguille est profondément enfoncée dans la lumière de la veine, et qu'elle ne peut pas se déplacer, on met en train l'injection intra-veineuse de sérum glucosé qui, mieux que tout autre procédé, évite la coagulation du sang dans l'aiguille.

## 2<sup>e</sup> TEMPS : PRISE DE SANG AU DONNEUR.

Par le moyen que l'on préfère (seringue ou simple aiguille), on prélève au donneur la quantité de sang désirée (1).

On recueille le sang dans une capsule stérilisée par flam-

---

(1) Si l'on est particulièrement maladroit, on a tout son temps pour faire une saignée par phlébotomie après anesthésie locale : le receveur peut attendre, car, grâce au sérum glucosé, son aiguille ne risque pas de se boucher.

bage soigné ou par ébullition dans l'eau physiologique. On a versé dans cette capsule de la solution isotonique de citrate à 4 %, conservé en ampoules stériles, en quantité égale (environ) au dixième du volume de sang à recueillir.

### 3<sup>e</sup> TEMPS : *TRANSFUSION PROPREMENT DITE.*

On remplit de sang une seringue stérile de grande capacité munie d'une aiguille, et après avoir stérilisé avec un tampon d'iodé le tuyau de caoutchouc de l'injection de sérum, on pique obliquement sa paroi et on injecte dans sa lumière le sang citaté.

Si on veut injecter peu de sérum glucosé, on écrase auparavant d'une pince de Kocher le tuyau au-dessous de l'ampoule de sérum (sinon, le sang reflue partiellement dans l'ampoule). Nous nous en abstenons d'ordinaire.

Avec ce procédé, pas d'incident : pas de précipitation dans l'exécution, pas de sang perdu, pas de coagulation intempestive, pas de faute d'asepsie.

---



## CHAPITRE XIII

# Appareil improvisé pour Pneumothorax artificiel ou injection sous-cutanée d'oxygène

---

### UTILITÉ.

Tout médecin peut avoir à faire des injections sous-cutanées d'oxygène (c'est aujourd'hui très à la mode), ou à pratiquer des réinsufflations pour l'entretien d'un pneumothorax artificiel.

On peut être appelé à soigner une hémoptysie qui, résistant à toute thérapeutique médicale, met par son abondance et sa répétition la vie du malade en danger ; ce cas est rare, mais pas absolument exceptionnel. Ici, une seule planche de salut : faire le diagnostic du poumon qui saigne — c'est souvent difficile — et pratiquer un pneumothorax artificiel d'urgence pour tenter de faire l'hémostase. C'est dans un cas de ce genre que, un jour, à la Charité, nous avons été amené à imaginer et à mettre en œuvre le dispositif suivant, tandis que notre Maître s'était absenté avec l'appar-

reil de Bayeux et que le personnel infirmier, dans sa précipitation, avait rendu inutilisable l'appareil de Küss.

Par la suite, nous avons employé ce système, non seulement pour le pneumothorax, mais aussi pour l'injection sous-cutanée d'oxygène (en supprimant dans ce cas le manomètre).

### PRINCIPE.

Une seringue aspire dans un ballon de caoutchouc le gaz à injecter et le refoule dans le tuyau qui aboutit à l'aiguille.

### MATÉRIEL ET MONTAGE.

Le centre de l'appareil est formé par un tube en X de verre (1) dont les quatre bouts sont, au moyen de tubes de caoutchouc, réunis respectivement aux quatre instruments suivants :

1° Le ballon de caoutchouc contenant le gaz ; sur le tube qui le raccorde au tube en X est, autant que possible, intercalé un filtre pour arrêter les poussières, tube de verre renflé ou non dans lequel a été introduit du papier filtre froissé.

2° Une seringue ordinaire de 20 cc.

3° L'aiguille à injection.

---

(1) Si l'on n'a pas de tube en X, on se servira, naturellement de deux tubes en T. A défaut, un bout de verre de lampe, long de 7 cm. environ, est fermé à chaque orifice d'un bouchon à deux trous dans lesquels s'engagent nos tubes de verre.

4° Un tube manométrique en U, dont les branches, d'au moins 40 cm. sont remplies, à moitié de leur hauteur, d'un liquide coloré. Une bande de papier portant une division en demi-centimètres est fixée au manomètre, le zéro correspondant à la position de repos. Ce manomètre est posé dans une éprouvette ou dans un verre.

Toute l'instrumentation doit être passée au Poupinel; à défaut, ce matériel peut être stérilisé par l'ébullition, exception faite pour le filtre que l'on pourra stériliser au four de cuisinière.

Trois pinces de Kocher terminent l'appareil : elles sont placées sur les tubes de caoutchouc réunissant le tube en X :

Au ballon de gaz ;

A la seringue ;

A l'aiguille.

## FONCTIONNEMENT.

Au lit du malade, l'appareil est posé sur une table recouverte d'un champ stérile (ou à défaut, d'une serviette roussie par un repassage extemporané).

Nous n'avons pas à rappeler la technique du pneumothorax artificiel. Disons seulement qu'en cas de première insufflation, on mettra dans l'examen du malade toute la minutie et la finesse dont on est capable pour choisir une zone libre de symphyse pleurale.

L'aiguille est donc dans la plèvre ce dont on s'aperçoit au manomètre qui indique une pression négative, présentant des oscillations régulières sous l'influence de la respiration. On note cette pression.

Il n'y a plus qu'à injecter, ce que nous allons analyser :

#### 1° ASPIRATION.

On enlève la pince de Kocher du tube du ballon et celle du tube de la seringue ; on aspire le gaz jusqu'à 20 cc. exactement ce qu'un aide facilite en comprimant le ballon. On replace la pince de Kocher sur le tube du ballon.

#### 2° INSUFFLATION.

On enlève la pince de Kocher placée sur le tube allant à l'aiguille, et on injecte lentement (comme avec tout autre appareil à pneumothorax, les yeux restent fixés sur le manomètre dont toute ascension insolite fait craindre que l'aiguille ne soit plus dans la plèvre). Replacer la pince de Kocher sur le tube allant à l'aiguille.

On note : 20 cc. et on recommence. Résumons : enlever la pince du ballon, aspirer 20 cc., remettre la pince du ballon ; enlever la pince de l'aiguille, injecter, la replacer, etc...

#### RÉSULTAT.

On injecte ainsi la quantité de gaz que l'on juge utile.

L'assistance d'un aide est facultative. Aucun incident n'est à craindre du fait de l'appareil.

Demander au malade de prévenir s'il a envie de tousser ce qui permet d'écraser à temps le tuyau du manomètre et d'éviter la projection du liquide manométrique. Un manomètre métallique ne présenterait pas cet inconvénient, mais alors, il ne s'agit plus d'un appareil improvisé.

---



## CHAPITRE XIV

# Comment faire une prise de sang sans ponction veineuse ni ventouse

---

### INDICATIONS.

La question se pose surtout en clientèle où certains malades se laissent parfois difficilement convaincre de la nécessité d'une ponction veineuse, et en tout cas n'admettent pas que le fait se reproduise trop souvent. Et c'est chez les enfants qu'un semblable prélèvement rend le plus de services, car il n'est pas toujours très facile chez eux de réussir une ponction veineuse.

Le procédé que nous indiquons ci-après nous a été enseigné, il y a déjà longtemps par M. le Professeur Tanon, tandis que nous travaillions dans son laboratoire de diagnostic bactériologique à l'Institut de Médecine Coloniale.

Très commode toutes les fois qu'une faible quantité de sang suffit, il trouve son indication majeure dans le prélèvement de sang pour séro-diagnostic, mais il peut donner assez de sang pour faire une réaction de Wassermann.

## COMMENT RECUEILLIR LE SANG.

### MATÉRIEL.

Une simple pipette de verre suffit. On aura soin de l'étirer lentement *dans* la flamme du bec Bunsen afin d'obtenir un changement de calibre *très* brusque. La portion capillaire sera cassée près de sa base : on réalise ainsi une sorte de tube à hémolyse dont le fond est muni d'un court tube capillaire.

### LA PRISE DE SANG.

a) On nettoie soigneusement à l'éther l'endroit que l'on va piquer, soit la pulpe d'un doigt, soit comme nous le préférons le lobule de l'oreille : plus propre que les doigts, il supporte sans douleur des pressions vigoureuses et répétées, et enfin saigne davantage.

(Si l'on préfère que le sang ne coagule pas pendant le prélèvement, il suffit de saupoudrer légèrement de quelques traces de fluorure de sodium pulvérisé, l'endroit que l'on va piquer).

b) Au moyen de la pointe d'une lancette (bien préférable à une épingle ou à un vaccinostyle), on fait rapidement une piqûre sur le lobule tenu entre le pouce et l'index de la main gauche.

c) Tandis qu'on comprime le lobule pour faire sourdre le sang, on recueille celui-ci avec la pipette mentionnée ci-

dessus, *tenue horizontalement* : grâce au tube capillaire, le sang pénètre de lui-même. On ne sera obligé d'aspirer que lorsque le sang sera coagulé dans la pipette (et il ne se coagule que si l'on n'a pas mis de NaF sur la peau).

En persévérant plusieurs minutes, on peut ainsi recueillir plusieurs centimètres cubes de sang.

d) Quand la quantité de sang récoltée est jugée suffisante, on aspire quelques bulles d'air pour vider la partie capillaire du tube et on ferme cette dernière sur la veilleuse du bec Bunsen.

#### SÉPARATION DU SÉRUM.

On a donc un tube à hémolyse contenant du sang. Si on a mis du fluorure de sodium, les globules se sédimentent. Si on n'en a pas mis, le caillot se rétracte.

Mais d'ordinaire une centrifugation est utile et parfois nécessaire. Nous n'avons qu'à centrifuger notre « tube à hémolyse ».

#### PRÉLÈVEMENT DU SÉRUM.

Nous avons donc une sorte de tube à hémolyse contenant dans le fond un caillot et du sérum surnageant.

On y prélève le sérum avec une pipette à effilure longue et étroite. Aussi cette pipette sera exécutée en l'étirant *rapidement* après avoir retiré le tube de verre de la flamme du Bunsen.

C'est bien entendu avec cette même pipette, préalablement rincée qu'il faut compter les gouttes de culture s'il s'agit d'une réaction d'agglutination, ou les gouttes de sérum physiologique, d'antigène, etc... s'il s'agit d'un Wassermann.

---

## CHAPITRE XV

# La mesure du pH pour la méthode colorimétrique

---

### RAPPEL THÉORIQUE.

Le pH est un symbole qui correspond à un chiffre logarithmique lequel exprime le coefficient de dissociation en ions H ou en ions OH c'est-à-dire le degré d'acidité ou d'alcalinité *actuelle* de ce corps.

D'une façon moins abstraite et moins rigoureuse, on peut dire qu'un acide « fort », c'est-à-dire « dissocié » (acide sulfurique, acide chlorhydrique) contient libéré, dans un litre de solution, la quantité suivante d'hydrogène remplaçable par une base :

Solution normale : 1 gr. d'H.

Solution décimale :  $\frac{1 \text{ gr.}}{10}$  d'H ou  $\frac{1}{10^1}$  soit pH 1

Solution centimale :  $\frac{1 \text{ gr.}}{100}$  d'H ou  $\frac{1}{10^2}$  soit pH 2

Solution millimale :  $\frac{1 \text{ gr.}}{1.000}$  d'H ou  $\frac{1}{10^3}$  soit pH 3 etc.

*Quelques points de repère :*

|                         |   |         |
|-------------------------|---|---------|
| Acidité maxima .....    | = | pH 0    |
| Neutralité .....        | = | pH 7    |
| Sang .....              | = | pH 7,35 |
| Larmes .....            | = | pH 8    |
| Alcalinité maxima ..... | = | pH 14   |

C'est à juste titre que la notion de pH a conquis en biologie une place importante.

INDICATIONS.

Elle peut rendre dans la pratique médicale journalière les plus grands services ainsi qu'il ressort de l'observation suivante. Alors que le pH ne faisait en médecine que de timides incursions, nous dûmes soigner un malade porteur d'un eczéma suintant rebelle à tous les traitements; la recherche du pH nous montra qu'il faisait de l'acidose : l'absorption d'alcalins suffit à le guérir en huit jours. Il n'en fallut pas davantage pour faire de nous un chaud partisan de cette méthode dont l'utilité est aujourd'hui bien connue.

CHOIX DE LA MÉTHODE.

La recherche de la réaction ionique sanguine ne mérite pas que nous nous y arrêtions :

1° D'abord parce qu'elle est un peu délicate : le pH sanguin est égal à 7,35 et n'oscille que dans des limites ex-

trêmement faibles, nécessitant une méthode capable d'apprécier des variations de deux centièmes.

2° Ensuite et surtout parce que l'urine reflète, considérablement amplifiées, les moindres variations du pH sanguin.

Aussi nous n'aurons pas un mot pour la méthode électrométrique, capable certes d'une grande précision (mais capable aussi de très larges erreurs) ni même pour les méthodes colorimétriques habituelles (dont la méthode au rouge de phénol ou phénolsulfonephthaléine est la plus pratique pour les recherches strictement scientifiques).

Le procédé très élégant de O. Guillaumin est le seul qui nous retiendra.

## MATÉRIEL.

1° Quelques tubes à essais de verre incolore, jaugés à 10 cc. d'un trait de lime.

2° Le réactif de Guillaumin préparé de la façon suivante :

|                           |           |
|---------------------------|-----------|
| Rouge de méthyle .....    | 0 gr. 125 |
| Bleu de bromothymol ..... | 0 gr. 40  |
| Na OH. N/20 .....         | 19 cc.    |

Mélanger au mortier pendant plusieurs minutes et ajouter :

|                             |           |
|-----------------------------|-----------|
| Eau distillée q. s. p. .... | 1.000 cc. |
|-----------------------------|-----------|

Il est bien préférable de se procurer le réactif tout préparé (chez Leune).

## TECHNIQUE.

Dans un tube à essais, jaugé verser :

Urine (1) ..... 10 cc.

Indicateur coloré ..... X gouttes

Agiter légèrement.

La teinte que prend instantanément le mélange permet de déduire d'après le tableau suivant le pH du liquide :

| <i>Nuance observée</i>         | <i>Exposant d'hydrogène pH</i> |                 |
|--------------------------------|--------------------------------|-----------------|
| Rouge géranium .....           | 3,6                            | ↑<br>Acidité    |
| Brun rouge .....               | 4,6                            |                 |
| Jaune brunâtre .....           | 5,5                            |                 |
| Jaune d'ambre .....            | 6,0                            |                 |
| Jaune verdâtre .....           | 6,5                            |                 |
| Vert jaune .....               | 7,0                            | ↓<br>Alcalinité |
| (jeunes feuilles de graminées) |                                |                 |
| Vert bleuâtre .....            | 7,6                            |                 |
| Bleu canard .....              | 9,2                            |                 |

[O. Guillaumin, M. P. Weil et Lévy-Darras ont d'ailleurs, pour faciliter la lecture, fait établir une échelle colorée

(1) Si la coloration de l'urine gêne, on la dilue au tiers ou même au cinquième avec de l'eau distillée : grâce aux « tampons » (Fernbach et Hubert) qu'elle contient, la dilution ne modifie pas le pH.

lithographiée avec les nuances correspondant aux pH suivants :

4,6 — 5 — 5,4 — 5,8 — 6,2 — 6,6 — 7 — 7,4 ]

## RÉSULTATS.

Normalement, le pH urinaire est compris entre 5,8 et 6,2 (teinte jaune). Une tendance à l'acidose ou à l'alcalose se traduit par une nuance tirant sur le rouge ou sur le bleu.

La mesure de l'acidité ionique urinaire répétée à intervalle de quelques jours permet de graduer le traitement neutralisant (alcalins ou acide phosphorique suivant le cas).

---

## CHAPITRE XVI

# Le Métabolisme basal

---

C'est le nombre de grandes calories dégagées au repos, à jeun, pendant une heure, par mètre carré de tégument.

La méthode colorimétrique n'étant pas applicable en clinique, on emploie la méthode indirecte des échanges respiratoires : on déduit le nombre de calories dégagées de la quantité d'oxygène consommé ou de  $\text{CO}^2$  exhalé. Un litre de  $\text{CO}^2$  exhalé résulte d'une combustion dégageant 5 cal, 6 (Achard et Binet).

En dernière analyse, la mesure du métabolisme basal consiste dans le dosage du  $\text{CO}^2$  dégagé dans un temps donné.

### INDICATIONS.

C'est pour le diagnostic des cas frustes de goitre exophthalmique et de myxœdème que la mesure du métabolisme basal rend le plus de services. Mais elle permet aussi de suivre le résultat du traitement (radiothérapie dans un cas, extrait thyroïdien dans l'autre) et d'en modifier l'intensité.

## PRINCIPE.

Dans le procédé habituellement employé (méthode à circuit ouvert), on mesure au spiromètre l'air expiré pendant trois minutes ; puis on analyse le contenu du flacon mélangeur dans un appareil quelconque : endiomètre de Laulanié, appareil de J. Haldane, burette de Léon Frédéricq, dispositif de R. Moog, appareil de Boigey ou tout autre.

Dépourvu de spiromètre, on peut néanmoins faire un dosage totalisateur en faisant barboter l'air expiré dans de l'eau de baryte. Il suffit de doser la baryte par l'acide azotique avant et après l'opération, ou plus simplement de recueillir sur filtre taré le carbonate de baryum précipité par l'acide carbonique exhalé.

## MATÉRIEL.

Nous considérons le cas de l'opérateur dénué de tout, n'ayant pas de masque Tissot A. R. S. ni de masque de Ricard avec ses soupapes.

### 1° MASQUE.

En l'absence de masque, on obture par une pince les narines du sujet et on le fait respirer par la bouche dans un tube qu'il tient entre les lèvres : un morceau de tube à essais fait l'affaire. Cet embout est raccordé par un tube de caoutchouc de gros diamètre, et assez court à la soupape de Müller.

## 2° SOUPAPE DE MULLER.

C'est celle qu'emploient les physiologistes, formée de deux flacons d'un litre avec bouchon à deux trous.

Dans le flacon d'aspiration, on met de l'eau; dans le flacon de refoulement, on mettra, pour l'épreuve de mesure 200 cc. d'eau de baryte.

## 3° EAU DE BARYTE.

$\text{Ba}(\text{OH})^2$  est soluble dans vingt fois son volume d'eau. Si elle n'est pas claire, la filtrer.

## TECHNIQUE.

On doit faire l'épreuve le matin (après douze heures de repos), à jeun. La température de la pièce sera de 16 à 18° pour assurer l'équilibre thermique avec le milieu extérieur.

1° REPOS, pendant trente minutes, au moins, le sujet étant étendu sur une chaise longue.

2° FONCTIONNEMENT A VIDE, pendant dix minutes : le sujet respire par le tube, mais le flacon de refoulement ne contient que 200 cc. d'eau.

3° EPREUVE PROPREMENT DITE, pendant cinq minutes, tandis qu'on a remplacé le flacon de refoulement par un flacon identique contenant environ 200 cc. d'eau de baryte.

Puis, on recueille sur un filtre taré, le précipité de  $\text{CO}^2\text{Ba}$  formé; on le fait sécher à l'étuve et on le pèse.

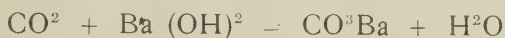
*Nota.* — S'il s'agit d'un enfant, on conseille de lui lire une histoire pour obtenir l'immobilité.

## RÉSULTAT.

Métabolisme basal =  $\frac{\text{Calories dégagées en une heure}}{\text{Surface du corps en mètr. cube}} = 4 \text{ Oca l}$   
environ chez un sujet normal.

### 1° CALORIES DÉGAGÉES.

On pourrait s'imaginer que d'après la formule :



une molécule-gramme de  $\text{CO}^2$ , c'est-à-dire 44 grammes, soit décelée par la précipitation d'une molécule-gramme de  $\text{CO}^3\text{Ba}$ , c'est-à-dire 197 grammes. Mais la quantité de  $\text{CO}^3\text{Ba}$  produite est très inférieure à la quantité prévue par le calcul. En effet lors du refoulement, l'air expiré barbotte à grosses bulles dans l'eau de baryte si bien que les deux tiers environs du  $\text{CO}^2$  sont seuls retenus. Toute correction serait fastidieuse dans son calcul et illusoire dans son exactitude. Nous y reviendrons dans un instant.

### 2° SURFACE DU CORPS.

Elle est d'évaluation difficile. Il existe pour cela des tables que l'on trouve dans les ouvrages spéciaux. On pourrait aussi calculer cette surface en fonction de la taille et du poids d'après la formule de Du Bois :

$$S = H^{0.725} \times P^{0.425} \times 71,84 = 2 \text{ mètres carrés environ.}$$

Mais ceci obligerait à chercher ces « puissances » n-ièmes à coup de tables de logarithmes. Aussi, H. et M. Janet ont construit, d'après la formule de Du Bois, un graphique qui permet de trouver la surface quand on connaît le poids et la taille.

Mais l'on est surpris des écarts considérables que donnent les différents procédés pour l'évaluation de la surface du corps.

#### COMMENT NOUS CONSEILLONS DE PROCÉDER.

Pour toutes ces raisons, le mieux est d'étalonner l'appareil en faisant l'épreuve avec un sujet bien portant. Si, trois épreuves pratiquées avec trois sujets normaux de l'âge et *de la corpulence du sujet examiné*, donnent des résultats concordants, on admet que la moyenne obtenue correspond à un métabolisme basal de 40 et l'on considère pour les recherches ultérieures qu'il y a proportionnalité dans la production de  $\text{CO}^3\text{Ba}$ .

#### INTERPRÉTATION.

Normalement le métabolisme basal est de 40 calories chez l'adulte et diminue progressivement avec l'âge :

45 cal à 15 ans

40 cal à 20 ans

38 cal à 40 ans

35 cal à 60 ans

Ces chiffres sont d'ailleurs à diminuer d'une ou deux calories chez la femme.

Dans la maladie de Basedow, le métabolisme est augmenté :

De 20 à 40 % dans les cas frustes ;

De 50 à 60 % dans les cas typiques.

Dans le myxœdème, le M. B. est diminué :

De 20 à 30 % dans les cas typiques.

Dans les autres syndromes endocriniens, les modifications du M.B. sont peu appréciables, un hypofonctionnement glandulaire se traduisant par un léger degré de diminution du M.B.

L'obésité et la maigreur ne s'accompagnent de modifications du métabolisme basal que s'ils sont eux-mêmes sous la dépendance d'un trouble endocrinien.

Le M. B. n'est pas modifié chez le diabétique.

Rappelons en terminant que l'on n'est en droit de conclure à une augmentation ou à une diminution que si l'écart constaté dépasse 15 %.

---



## CHAPITRE XVII

### L'Épreuve de Sellar (Résistance à l'alcalinisation)

---

#### INDICATIONS.

C'est une des trois épreuves auxquelles les médecins américains soumettent systématiquement tout malade atteint d'une néphrite chronique (les deux autres étant l'épreuve de l'élimination de la P. S. P. et le dosage du  $\text{CO}_2$  sanguin ou alvéolaire).

Mais sa recherche est surtout intéressante en cas d'acidose diabétique.

#### PRINCIPE.

Si l'on fait ingérer à un individu sain 10 grammes de bicarbonate de soude, ses urines deviennent alcalines.

#### MATÉRIEL.

1° Des paquets avec :

Bicarbonate de soude ..... 10 grammes

2° L'instrumentation nécessaire pour l'appréciation du pH.

La mesure facile du pH urinaire donne à cette épreuve une particulière commodité. Voici la façon dont nous l'exécutons :

### TECHNIQUE.

1° Faire uriner le malade ;

Noter son pH urinaire ;

Lui donner à prendre, avec de l'eau (ou du thé) un paquet de 10 grammes de bicarbonate.

2° Une demi heure après, le faire uriner à nouveau ;

Reprendre la valeur du pH.

Si celui-ci a augmenté (urines plus alcalines), le sujet s'est comporté normalement vis-à-vis de l'épreuve. Sinon, lui donner un deuxième paquet, et reprendre une demi heure après le pH, etc... jusqu'à obtention de l'alcalinisation.

### RÉSULTATS.

On obtient l'alcalinisation des urines avec les quantités suivantes de bicarbonate :

|                       |            |
|-----------------------|------------|
| Normalement .....     | 10 grammes |
| Acidose légère .....  | 20 grammes |
| Acidose moyenne ..... | 30 grammes |
| Acidose grave .....   | 40 grammes |

Dans certains cas de diabète ou de néphrite, il faut parfois 50 et même 100 grammes.

## CHAPITRE XVIII

# Mesure de la Tension intra-alvéolaire de l'acide carbonique

---

### INDICATIONS.

C'est un des moyens d'examen de l'équilibre acide-base du sang dont l'étude sera intéressante toutes les fois que l'on soupçonnera un syndrome d'acidose (principalement en cas de diabète ou de néphrite), ou d'alcalose.

### PRINCIPE.

La Tension T du CO<sup>2</sup> alvéolaire, évaluée en millimètres de mercure, est donnée par la formule suivante :

$$T = \frac{p}{100} \times (H-48)$$

dans laquelle :

p représente le pourcentage, en volume, du CO<sup>2</sup> dans le mélange gazeux ; c'est le seul élément qu'il faille obtenir par dosage ;

H est la pression barométrique au moment de l'expérience ;

48 est le chiffre de la tension de la vapeur d'eau à 37°5.

La mesure de la tension du  $\text{CO}^2$  intra-alvéolaire se résume donc dans le dosage pour 100 du  $\text{CO}^2$  dans l'air expiré au moment d'une expiration forcée.

Ce dosage, nous l'effectuons simplement à l'aide de l'absorption du  $\text{CO}^2$  par de la potasse dans une burette à gaz (analogue à celle de l'appareil de Haldane par exemple) réa-lisée par un uréomètre d'Yvon complété par un robinet à son extrémité libre.

## MATÉRIEL.

1° La grande éprouvette d'un litre qui sert de cuve à eau pour l'uréomètre d'Yvon. A la surface, on versera un demi centimètre cube d'huile de vaseline pour isoler l'eau des gaz de la burette et éviter ainsi des erreurs en moins par dissolution du  $\text{CO}^2$  dans l'eau.

2° L'uréomètre d'Yvon que l'on emploie pour le dosage de l'urée sanguine : sa tige, très fine, est graduée en centièmes de cc. et sa partie inférieure présente un réservoir renflé.

Cet uréomètre va servir d'éprouvette à gaz : on le tiendra à l'envers sur la cuve à eau et sa partie capillaire montrera avec précision la diminution du volume gazeux sous l'influence de la potasse.

Mais il faut pour cela que l'extrémité située du côté du réservoir (devenue extrémité supérieure) soit obturée : on y

enfonce solidement un bouchon percé d'un trou où est introduit un gros robinet surmonté d'un évasement ou d'un petit entonnoir.

Le robinet inférieur (le vrai robinet du tube d'Yvon) doit rester toujours ouvert.

L'appareil est jaugé soigneusement, y compris le tube capillaire. Ce jaugage peut se faire soit au moyen d'une pipette de Levaditi, soit en pesant l'appareil vide puis rempli d'eau.

3° Lessive de soude ou de potasse ou eau de baryte.

## TECHNIQUE.

### 1° PRÉLÈVEMENT DE L'AIR ALVÉOLAIRE.

Le sujet, au repos complet depuis un quart d'heure prend le tube d'Yvon dont les deux robinets sont ouverts. A la suite de respirations normales, il prend dans sa bouche ou applique sur ses lèvres, au début d'une expiration, l'embout du robinet supérieur (celui fixé par un bouchon), et exécute une expiration forcée, balayant ainsi l'appareil avec l'air expiré (air de réserve de Gréhan qui possède la même composition que l'air alvéolaire).

A la fin de l'expiration, il ferme le robinet supérieur (le seul qui serve) et plonge immédiatement le tube dans la cuve à eau (l'huile de vaseline mise à sa surface isole l'eau du gaz à analyser).

On attend cinq minutes que la température s'équilibre.

## 2° ANALYSE DE L'AIR RECUEILLI.

Le tube étant enfoncé dans l'éprouvette à eau, on ouvre légèrement le robinet supérieur pour chasser l'excédent de gaz et amener au zéro de la graduation de l'uréomètre (au ras du robinet inférieur) le niveau de l'eau. On ferme le robinet supérieur.

On met alors, dans l'évasement du robinet supérieur de la lessive de potasse et on ouvre légèrement le robinet, tandis qu'on a soulevé le tube pour faire l'aspiration de l'alcali. Celui-ci coule contre la paroi de la burette à gaz et absorbe le  $\text{CO}^2$  qu'elle contient. Par trois fois, on aspire ainsi 2 cc. environ de la solution de potasse.

On équilibre le niveau du liquide dans la burette et dans la cuve à eau et on lit la quantité de  $\text{CO}^2$  absorbée. Connaissant la capacité de l'appareil, on ramène à l'aide d'une règle de trois, le chiffre trouvé à 100 : c'est la valeur  $p$  de la formule :

$$T = \frac{p}{100} \times (H-48)$$

## RÉSULTATS.

On ne se jugera satisfait que si l'on trouve trois dosages concordants.

Normalement :

$$p = 5,9 \text{ à } 6,5,$$

et par conséquent :

$$T = 42 \text{ à } 46.$$

Ces chiffres s'élèvent pendant la digestion (alcalose digestive), mais ne sont pas influencés par un cancer de l'estomac (Kaunders).

L'acidose du diabète, des néphrites chroniques (Rathery et Bordet) se traduit par une diminution de la tension du  $\text{CO}^2$ .

Acidose légère .....  $T = 38 \text{ à } 32$ .

Acidose moyenne .....  $T = 32 \text{ à } 28$ .

Acidose forte .....  $T < 28$ .

---



## CHAPITRE XIX

### La réserve alcaline dans son rapport avec le $\text{CO}^2$ intra alvéolaire

---

La réserve alcaline ou capacité en  $\text{CO}^2$  de 100 cc. de plasma sert, comme la recherche de l'acide carbonique alvéolaire, à apprécier l'équilibre acide-base du sang.

Sa mesure est assez simple si l'on possède l'appareil de van Slyke qui donne toute sécurité mais coûte cher, car il nécessite une colonne de mercure pour faire le vide. L'appareil de Nicloux par contre nécessite plus d'attention et ne nous a pas donné de résultats aussi exacts.

Mais réserve alcaline et  $\text{CO}^2$  intra-alvéolaire varient dans le même sens et d'ordinaire, parallèlement. Dans la pratique, l'une des deux épreuves suffit, et nous avons établi un graphique qui permette de déduire avec une approximation suffisante l'une des deux valeurs en fonction de l'autre.

La capacité en acide carbonique de 100 cc. de plasma est de :

Chez l'homme normal ..... 77 à 53.

En cas d'acidose légère ..... 40 à 30.

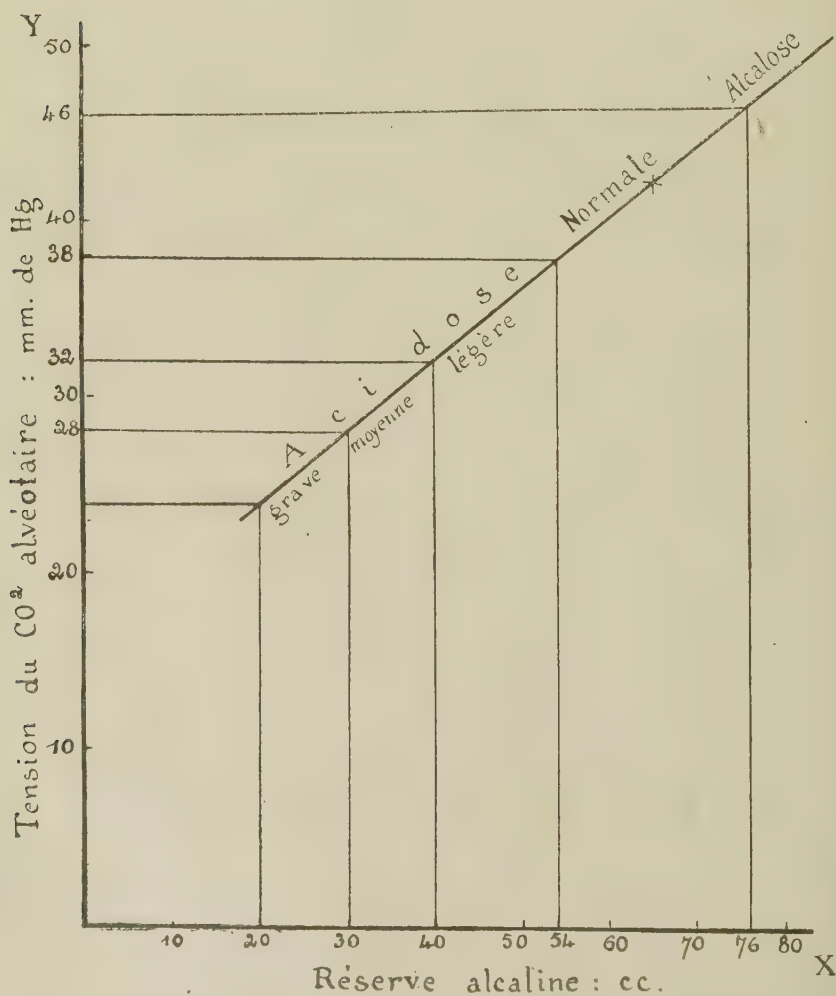
En cas d'acidose forte ..... < 30.

Chez l'enfant, les chiffres normaux varient de 63 à 46.

Le graphique suivant indique clairement la loi de correspondance entre la réserve alcaline et la tension du  $\text{CO}^2$  alvéolaire. Nous avons tracé :

En abscissés les valeurs de la réserve alcaline (bicarbonates disponibles) évaluées en cc. de  $\text{CO}^2$  à  $0^\circ$  et 760 mm. de mercure pour 100 cc. de plasma;

En ordonnées la tension intra-alvéolaire de  $\text{CO}^2$  évaluée en mm. de Hg.



## CHAPITRE XX

# Dosage du Sucre par la méthode de Claude Bernard

---

### INDICATIONS.

C'est à l'aide de cette méthode, aujourd'hui bien oubliée que Cl. Bernard fit tous ses travaux sur la glycémie et le glycosène.

Elle n'est évidemment pas susceptible d'une précision très rigoureuse, et elle est d'autant moins pratique qu'elle nécessite 25 cc. de sang. Mais nous pensons que ce procédé mériterait de revenir en honneur, pour le dosage de la glycosurie.

### PRINCIPE.

Il s'agit :

1° De réduire la liqueur de Fehling à l'abri de l'air, pour éviter la réoxydation ;

2° D'opérer en présence de potasse qui dissout l'oxydule.

## TECHNIQUE.

L'urine déféquée rapidement au réactif de Courtonne et filtrée est diluée en proportion convenable suivant la quantité probable de sucre. Pour le dosage proprement dit, nous ne pouvons mieux faire que de transcrire presque mot à mot la technique de Cl. Bernard :

« On verse dans un ballon de verre un centimètre cube de la liqueur de Fehling titrée ; on y ajoute 15 à 20 cc. d'une solution concentrée et récente de soude ou de potasse.

« Alors on bouche le ballon avec un bouchon à deux trous. Dans l'un de ces trous entre à frottement le tube d'écoulement de la pipette ; dans l'autre est placé un tube de verre recourbé destiné à donner issue à la vapeur d'eau qui se dégagera lors de l'ébullition, et muni à son extrémité d'un tube de caoutchouc sur lequel on applique une pince à pression. Cette disposition a l'avantage suivant : lorsque le contenu du ballon est entré en ébullition et qu'une certaine quantité de vapeur d'eau s'est échappée par le tube en question, entraînant l'air du ballon, on ferme ce tube (par pression sur la pince du caoutchouc) et l'on opère alors la réaction à l'abri de l'air.

« Pour opérer, on se sert de la flamme d'une lampe à alcool ou d'un bec de gaz au-dessous du ballon contenant le liquide bleu additionné de soude ou de potasse, et l'on chauffe. Dès que l'ébullition se produit, on note la division

de la pipette où s'arrête le niveau supérieur du liquide à doser qu'elle contient, et l'on agit sur la pince à pression continue, de manière à déterminer l'écoulement de ce liquide, d'abord en un petit filet, puis goutte à goutte à mesure que l'on approche de la fin de la réaction. Il est inutile de maintenir, comme nous le faisons autrefois, en ébullition la liqueur bleue du ballon dans lequel vient tomber le contenu de la pipette. La présence du bouchon à deux ouvertures, dont nous avons donné la description, permet, par la fermeture du tube qui communique avec l'extérieur, d'opérer à l'abri de l'air. Du reste, dans ces circonstances, en retirant la lampe à alcool, on voit l'ébullition se continuer dans le vide.

« Voici ce qui se produit alors : le sucre contenu dans le liquide de la pipette réduit et décolore le sel de cuivre contenu dans le ballon ; mais vu la présence d'un alcali puissant, de la soude ou de la potasse, ajoutée en excès à la liqueur de Fehling, le précipité d'oxydure de cuivre est redissous à mesure de sa formation de telle sorte qu'il n'y a pas de coloration jaune ou rouge, il y a simplement décoloration de la liqueur bleue. Si l'on ne maintient pas le réactif en ébullition, ou si l'on n'opérait pas à l'abri de l'air, on verrait la liqueur bleue se reformer, et c'est là une cause d'erreur contre laquelle on ne saurait trop se tenir en garde.

« Il faut une certaine habitude pour juger du moment où la décoloration est parfaite et ne dépasse pas ce point : une

excellente précaution est de placer de l'autre côté du ballon une feuille de papier blanc verticale, de sorte qu'il est facile sur ce fond blanc, de juger de l'instant précis où les dernières traces de bleu ont disparu ; on arrête alors l'écoulement du liquide de la pipette, et l'on note le degré où est descendu le niveau supérieur du liquide. Dès lors, l'opération est finie : il ne s'agit plus que d'interpréter le résultat par le calcul ».

Naturellement, si l'on désire un résultat précis, il sera bon de faire un nouveau dosage du Fehling employé, au moyen d'une solution étalon de glucose. De plus, nous trouvons commode d'avoir à côté du ballon de dosage (et devant la même feuille de papier blanc) un ballon identique plein d'eau chaude qui facilite l'appréciation du moment exact de la décoloration complète du Fehling (Si le ballon n'est pas plein d'eau *chaude*, la vapeur du ballon de la réaction vient se condenser sur lui).

Voici donc une méthode qui permet de doser la glycosurie journallement, en quelques minutes, avec une exactitude dépassant de beaucoup celle des procédés similaires.

---

## CHAPITRE XXI

### Semi-microméthode pour le dosage du sucre, du sang et du liquide céphalo-rachidien

---

#### INDICATIONS.

1° Le dosage de la glycémie est un élément dont on ne peut se passer lorsque l'on désire soigner par l'insuline un diabétique c'est-à-dire dans les cas graves avec forte diminution de la « capacité d'utilisation hydrocarbonée » de Marcel Labbé. Il est nécessaire au même titre que le dosage de la glycosurie (nous venons de voir le procédé de Cl. Bernard commode et exact) et que la recherche des corps cétoniques par les réactions courantes.

Mais contrairement à ces derniers qui doivent être quotidiens ou presque, le dosage de la glycémie peut être fait à intervalles espacés, mais — à moins qu'on ne soit pressé par les circonstances — doit précéder la mise en œuvre du traitement insulinique afin de s'assurer qu'il ne s'agit pas d'un diabète rénal (glycosurie avec glycémie normale).

2° Depuis que l'encéphalite épidémique a pris place dans le cadre nosologique, le médecin a souvent l'occasion de discuter ce diagnostic. Or, si l'hyperglycorachie n'est pas absolument constante, elle est, lorsqu'elle existe, un signe presque pathognomonique. Aussi importe-t-il d'avoir sous la main un procédé exact, sûr et d'une mise en œuvre facile.

## DISCUSSION DES PROCÉDÉS EXISTANTS.

Leur nombre est énorme : tous les mois, de nouveaux apparaissent. Nous les avons, des années durant, guettés dès leur apparition, dès leur publication, dans l'espoir de découvrir le procédé idéal.

De notre côté, pendant longtemps, nous avons cherché la méthode à la fois simple et précise pour le dosage du sucre, ou plus exactement, des substances glucidiques réductrices du sang.

### 1° PROCÉDÉS INFIDÈLES.

Certains procédés sont simples, mais donnent des résultats fantaisistes : par exemple le procédé de Causse-Bonnans que nous nous étonnons de voir conseillé par Denigès. Mais il est loin de valoir l'ancien procédé de Cl. Bernard qui joint, à une plus grande netteté dans le virage final, l'absence de réoxydation.

## 2° TROP GRANDE QUANTITÉ DE SANG.

D'autres procédés — précis ceux-là — nécessitent encore 20 cc. de sang : telle est la méthode de Bertrand qui est la macro-méthode type, mais ne peut être adoptée en micro-méthode. Nous n'avons pu, malgré des essais persévérants et la modification conseillée par Saint-Rat et Roufaud, obtenir des résultats satisfaisants dès que la quantité de glucose mise en œuvre était inférieure à 10 milligrammes (correspondant à un prélèvement de sang de 15 cc. environ).

## 3° TECHNIQUES DÉLICATES.

La méthode de Bang est précise et ne nécessite que 3 ou 4 gouttes de sang ; mais plusieurs réactifs ne se conservent que quelques jours et surtout la technique est très délicate : seul un homme de laboratoire y consacrant tout son temps, à l'exclusion de toute autre occupation, peut en tirer de bons résultats. Aussi, ne l'avons-nous même pas essayé.

Les méthodes dérivées de celle-ci (Van Shaffer et Hartmann), sont aussi compliquées et perdent le caractère de microméthode.

La méthode de Hagedord et Jansen est simple, mais trop aléatoire pour être retenue (nécessité de réactifs irréprochables).

## 4° PROCÉDÉS NÉCESSITANT UN COLORIMÈTRE.

Vient ensuite le groupe des méthodes colorimétriques :

Lewis et Benedict, Folin et Wu, Goiffon et Nèpveu. Elles ont l'inconvénient de nécessiter un colorimètre pour apprécier les résultats avec quelque exactitude. Le procédé de Folin et Wu, en raison de sa simplicité, jouit d'une vogue très grande et très méritée, mais on lui reproche le défaut de proportionnalité parfaite entre la coloration et la quantité de glucose. On verra au chapitre suivant sur la micro-méthode, comment on peut tourner du même coup la difficulté inhérente au manque de proportionnalité des teintes et celle liée à la nécessité d'avoir un colorimètre).

#### 5° PROCÉDÉS EXACTS.

Il en existe, mais ils sont un peu trop compliqués pour séduire le médecin, que seul peut tenter un procédé extrêmement simple dans sa technique et dans son calcul. Telle est la méthode de Baudoin et Lewin, méthode par différence qui non seulement en semi-microméthode, mais aussi en micro-méthode, donne des résultats précis.

Le procédé simple que nous décrivons ci-après et que nous avons employé jusqu'à ces derniers temps, ne nécessite ni matériel très spécial, ni manipulations, ni calculs compliqués. Il est emprunté à Fontès et Thivolle dont nous utilisons les formules de réactifs que ces auteurs ont minutieusement étudiées au cours de très longues recherches. Ceux que ces questions intéressent particulièrement liront avec fruit ce remarquable travail : « G. Fontès et L. Thivolle :

Recherches expérimentales sur le micro-dosage des substances glucidiques réductrices du sang. *In Bul. Soc. Chimie biol.* Tome IX, n° 4. » On y trouvera de plus une abondante bibliographie.

## PRINCIPE.

Nous pratiquons le dosage sur le sang total, ce qui est plus simple et très suffisant.

Le principe est le suivant :

1° Réduction de la solution de liqueur de Fehling en oxydure  $\text{Cu}^2\text{O}$ .

2° Dosage de l'oxydure par molybdomanganométrie : dissolution du  $\text{Cu}^2\text{O}$  par le réactif molybdique qui développe une couleur bleue due au sous-oxyde de molybdène, et dosage de son intensité au moyen du permanganate qui décolore (transformation en anhydride molybdique  $\text{MnO}^3$ ).

Les résultats sont comparés avec celui obtenu au moyen d'une solution étalon de glucose, ce qui supprime les calculs et surtout diminue les causes d'erreurs liées à des fautes de technique.

## MATÉRIEL.

### 1° FILTRE A AMIANTE.

Pour la filtration, nous suppléons au filtre de Pregl et au filtre de Fontès et Thivolle en nous servant d'un tube à

amiante genre Soxhlet, mais de modèle réduit, sur la construction duquel nous reviendrons dans un instant.

A son extrémité supérieure aboutit, par l'intermédiaire d'un raccord de caoutchouc, le tube à bout effilé au moyen duquel on aspire le mélange Fehling-oxydure du tube à essais où s'est faite la réduction.

L'extrémité inférieure du tube à amiante est montée sur une « fiole à vide », flacon fermé d'un bouchon à 3 trous dont :

l'un reçoit le filtre ;

l'autre le tube venant de la trompe à eau ;

le troisième qui sert de prise d'air pour graduer le vide est muni d'un robinet ou d'un caoutchouc serré par une pince à vis ; on règle ainsi à volonté la rapidité de filtration.

Voici maintenant quelques détails pour la construction du tube à amiante.

a) *Le tube.* — Sur un tube de verre, on souffle une boule, au-dessous de laquelle on étire un petit étranglement. Ce tube doit être garni d'amiante.

b) *L'amiante.* — On fait une boulette d'amiante avec des fibres un peu dures et on la tasse avec une baguette fine, dans le fond de la boule soufflée, au-dessus de l'étranglement. Par dessus cette première couche, on en verse une seconde d'un demi ou d'un centimètre d'épaisseur, formée d'amiante à fibres dures finement broyée au mortier avec un peu d'eau.

c) *Avant sa mise en service*, le filtre est lavé à l'acide chlorhydrique, puis à l'eau *distillée* jusqu'à disparition de toute trace d'acidité dans le liquide de lavage, fait facilement vérifié avec une goutte de nitrate d'argent. Cette opération effectuée avec une aspiration lente sert de plus à tasser l'amiante.

L'appareil peut alors servir un très grand nombre de fois sans avoir besoin d'autre soin que d'un lavage, par aspiration d'un tube à essais d'eau distillée avant chaque opération.

Nous conseillons vivement, pour vérifier la perfection du filtre, de verser dans le filtrat, rassemblé dans la fiole à vide, quelques gouttes de réactif molybdique phosphorique : si la moindre trace d'oxydure a traversé le filtre, la teinte bleue caractéristique prend naissance.

Pour terminer le matériel, il faut encore :

2° QUELQUES TUBES A ESSAIS, ordinaires (20 cm de long sur 2 cm de diamètre) qui serviront de tubes à réduction.

3° PIPETTES : ordinaires et pipettes de Levaditi

4° UNE BURETTE DE MOHR, à graduation au dixième de centimètre cube, et de *faible diamètre*, complétée par une capsule de porcelaine pour le dosage terminal,

## RÉACTIFS.

### 1° ANTIGLYCOLYTIQUE :

Fluorure de sodium pulvérisé.

On en met, dans le tube à prise de sang, des traces : 2 et jusqu'à 5 milligrammes par centimètre cube de sang à recueillir. Il est de plus, comme on sait, anticoagulant. Il n'est pas utile si l'on prélève le sang au laboratoire au moment de faire le dosage.

### 2° RÉACTIFS DE DÉFÉCATION DE FOLIN ET WU.

Ce procédé est de beaucoup le plus simple et le plus sûr :

- A) Tungstate de soude pur ..... 5 grammes  
Eau distillée ..... 50 grammes  
Toluène ou xylol : quelques gouttes, pour empêcher les moisissures.

B) Acide sulfurique aux deux tiers normal.

### 3° LIQUEUR DE FEHLING.

Pour un micro-dosage, il faut une liqueur de Fehling qui remplisse les conditions suivantes : pas d'auto-réduction ; floculation d'oxydure à gros grains pour éviter la réoxydation par l'air et permettre un arrêt facile par le filtre ; proportionnalité rigoureuse de  $\text{Cu}^2\text{O}$ . Ces caractéristiques sont réalisées par le liquide de Fehling tartrique optimum de Fontès et Thivolle :

### *Solution A.*

Dissoudre à l'ébullition 50 gr. de tartrate acide de potasse très pur (pesés au dixième de milligramme) dans 800 cc. d'acide sulfurique normal. Faire d'autre part une solution de 25 gr. de sulfate de cuivre cristallisé (pesés au dixième de mgr.) dans environ 80 cc. d'eau distillée, et l'ajouter à la précédente. Refroidir. Compléter à 1.000 cc. avec de l'eau distillée. La solution doit être absolument limpide. Filtrer si c'est nécessaire, en utilisant le tube filtrant.

### *Solution B.*

Sulfate de potasse cristallisé pur à 80 gr. par litre.

### *Solution C.*

Carbonate de potasse pur et sec à 280 gr. par litre.

Mélanger, au moment de l'emploi, un volume égal, mesuré à la pipette, des trois solutions, dans l'ordre : A, B, C. Ne pas se servir d'une solution vieille de plus de deux heures (auto-réduction).

## 4° RÉACTIF MOLYBDIQUE-PHOSPHORIQUE

dissolvant du sous-oxyde de cuivre :

Prendre dans une capsule de porcelaine 20 gr. d'acide molybdique pur ou 40 gr. de molybdate d'ammoniaque pur. Ajouter environ 200 cc. d'eau et 10 gr. de soude en bâtons (acide molybdique) ou 20 gr. (molybdate). Faire bouillir jusqu'à complet départ d'ammoniaque. Rajouter environ 500 cc.

d'eau et 200 gr. d'acide phosphorique cristallisé pur, en solution dans au moins 200 cc. d'eau. Faire bouillir un quart d'heure. Ajouter, pendant l'ébullition, une solution concentrée de permanganate de potasse goutte à goutte jusqu'à persistance de teinte rosée. Refroidir. Verser goutte à goutte une solution diluée de sulfate ferreux jusqu'à décoloration complète. Compléter au litre.

5° SOLUTION MÈRE DE PERMANGANATE.

Permanganate de potasse ..... 8 gr.

Eau ..... 1.000 cc.

Diluer au centième pour l'usage.

5° SOLUTION ÉTALON DE GLUCOSE.

Faire une solution de glucose pur et anhydre à 1 pour 1.000 et ajouter quelques gouttes de xylol ou de toluène.

Au cas où l'on n'a pas de glucose, on peut préparer comme suit, d'après Folin, une solution-étalon de sucre inverti :

Dans une bouteille jaugée à 1 litre, on verse :

Sucre de canne ..... 1 gr. exactement

Acide chlorhydrique normal.. 20 cc.

Laisser une nuit à la température de la pièce, ou 10 minutes au bain-marie à 70° en remuant continuellement. Ajouter, pour neutraliser l'acide chlorhydrique :

Bicarbonate de soude ..... 1 gr. 68

Acétate de soude ..... 0 gr. 2

Agiter quelques minutes pour chasser l'acide carbonique et ajouter :

Eau distillée q. s. pour 1.000 cc.

Il est nécessaire d'ajouter en plus 50 cc. d'eau, car 1 gr. de sucre de canne donne 1 gr. 05 de sucre interverti.

Additionner de quelques gouttes de xylol ou de toluène pour conserver. Bien boucher.

## TECHNIQUE.

### DÉFÉCATION.

Aussitôt après la récolte du sang (si on ne met pas de NaF), mélanger dans un tube à essais marqué d'un trait de lime à 10 cc. (ou mieux dans une fiole jaugée à 10 cc.) :

Eau ..... environ 5 cc.

Sang mesuré à la pipette de Levaditi .... 1 cc.

(y rincer la pipette).

Solution défécante de tungstate de soude .. 1 cc.

Acide sulfurique 2 N/3 ..... 1 cc.

Eau q. s. p. .... 10 cc.

Agiter vigoureusement. Filtrer : le filtrat qui correspond à 1 cc. de sang dilué au dixième présente, au point de vue du dosage, les qualités d'une solution pure de glucose.

Si le dosage se fait dans du liquide céphalo-rachidien, employer 2 cc. de liquide CR au lieu de 1 cc. de sang. Rien ne change par ailleurs, ni dans la quantité d'aucun réactif, ni dans la conduite de l'analyse.

## RÉDUCTION.

Elle doit porter sur une quantité de filtrat contenant moins de 1 mgr. 3 de glucose, ceci en raison de la quantité de Fehling employée. Avec du sang ou du liquide C. R. normaux, il y a environ 0 mgr. 1 par centimètre cube de filtrat.

Dans un tube à essais, verser :

|                           |          |
|---------------------------|----------|
| Filtrat .....             | 5 cc. 00 |
| Fehling « composé » ..... | 2 cc.    |

Mettre 20 minutes au bain marie et refroidir en plongeant les tubes dans l'eau.

## RASSEMBLEMENT DU PRÉCIPITÉ D'OXYDULE (1).

On se sert, pour recueillir l'oxydule, du filtre à amiante précédemment décrit. L'aspiration se fait directement dans le tube à essais où a eu lieu la réduction. Elle doit être assez lente (2 gouttes par seconde) pour ne pas entraîner de particules de  $\text{Cu}^2\text{O}$  dans le filtrat.

*Ne pas laver à l'eau l'oxydule*, ce qui aurait pour effet fâcheux de le réoxyder en partie, mais la filtration étant terminée, faire passer un violent courant d'air (Fontès et Thi-

---

(1) Nous avons essayé de recueillir le précipité de  $\text{Cu}^2\text{O}$  par centrifugation. Nous avons également essayé de supprimer ce temps de séparation du précipité en n'ajoutant qu'une quantité de Fehling à peine supérieure à celle qui doit être réduite par la quantité présumée de glycose : de cette façon, on n'est pas gêné par la couleur du Fehling non réduit lorsqu'on procède au titrage molybdo-manganométrique. Mais ni l'une ni l'autre de ces simplifications ne nous ont donné des résultats aussi constants que la séparation du  $\text{Cu}^2\text{O}$  par filtration.

voile) « pour être sûr d'oxyder à fond la substance réductrice issu de l'acide tartrique et de s'en débarrasser ainsi. Si cette précaution n'était pas observée, et si le sous-oxyde n'était pas correctement décanté, on risquerait d'avoir des chiffres trop forts et de mauvais virages ».

On jette le filtrat et on lave rapidement le flacon.

#### DISSOLUTION DU SOUS-OXYDE.

On dissout le  $\text{Cu}^2\text{O}$  restant dans le tube à essais, et celui retenu sur le filtre, en mettant dans le tube à essais du réactif molybdique phosphorique qu'on aspire par le tube à bout effilé.

On lave tube et filtre d'abord au réactif (jusqu'à disparition de la couleur bleue), puis à l'eau, jusqu'à disparition de la réaction acide.

#### DOSAGE DE L'OXYDULE.

On transvase dans une capsule de porcelaine le bleu de molybdène formé par la dissolution du  $\text{Cu}^2\text{O}$ , et on rince la fiole à vide, en ajoutant dans la capsule l'eau de rinçage.

Au moyen d'une burette de Mohr de faible diamètre, on verse la solution de  $\text{MnO}^4\text{K}$  à 0 gr. 08 par litre jusqu'à disparition de toute couleur. Surtout ne pas aller, comme dans la méthode de Bertrand jusqu'à la teinte rose donnée par un excès de  $\text{MnO}^4\text{K}$ .

## RÉSULTATS.

On pratique la réaction concurremment sur le liquide à doser et sur 1 cc. de la solution étalon (que naturellement on n'a pas à déféquer), solution étalon qui contient 1 mgr. de glucose, et que l'on complète à 5 cc.

On sait donc le nombre de cc. de  $\text{MnO}'\text{K}$  qui correspond à 1 mgr. de glucose.

Il suffit de diviser par ce nombre, le nombre de cc. de  $\text{MnO}'\text{K}$  obtenu avec le liquide à doser : on a ainsi la quantité de glucose contenue dans le liquide mis en œuvre pour le dosage (0 cc. 5 de sang ; 1 cc. de liquide C. R.).

Le dosage est terminé. Il n'a guère duré plus d'une heure.

## INTERPRÉTATION.

Normalement, la glycémie est comprise entre 0 gr. 95 et 1 gr. 10.

Le dosage de la glycémie, indispensable dans l'examen d'un diabétique, devra être renouvelé périodiquement : par exemple tous les deux mois ou tous les mois dans les diabètes bien compensés ; toutes les semaines dans les cas où, des accidents menaçant d'apparaître, la surveillance doit être plus étroite.

Mais cela ne dispense pas du dosage de la glycosurie qui, pendant la cure insulinique, doit être quotidien.

---

## CHAPITRE XXII

# Microméthode pour le dosage du sucre

---

Dans le chapitre précédent, nous avons décrit, avec quelques variantes personnelles, la dernière méthode de dosage de Fontès et Thivolle : nous l'avons dès son apparition employée avec les meilleurs résultats.

On serait mal venu de lui reprocher d'être très compliquée. Pourtant, nous sommes revenu à l'ancien procédé molybdo-manganimétrique de Folin et Wu qui, bénéficiant des formules de réactifs minutieusement mises au point par Fontès et Thivolle pour leur méthode, devient, lui aussi, un procédé susceptible d'une grande précision.

Nos principes généraux de laboratoire trouvent ici leur application naturelle : remplaçant les calculs par une épreuve avec une solution titrée, et pratiquant le dosage colorimétrique par comparaison du tube en expertise avec une gamme de tubes étalons, on se met à l'abri des principales causes d'erreur.

### MATÉRIEL.

1° On choisit une dizaine de tubes à essais de taille moyenne, rigoureusement semblables, en verre bien incolore.

On les jauge d'un trait de lime à 10 cc. Ce sont les mêmes que ceux qui servent pour le dosage colorimétrique dans l'épreuve de la phénolsulfonephtaléine.

2° Quelques pipettes de Levaditi au centième de cc. Pour chaque temps de l'opération, il est souhaitable de se servir de la même pipette si l'on veut une exactitude parfaite. Il faut pour cela la laver à l'eau, à l'alcool et la sécher à l'éther.

3° Petits entonnoirs et papier filtre.

## RÉACTIFS.

Les formules arrêtées par Fontès et Thivolle pour l'exécution de leur méthode sont de beaucoup les plus recommandables pour retirer de la méthode de Folin et Wu les résultats précis qu'on peut lui demander :

- 1° Fluorure de sodium pulvérisé;
- 2° Réactif de défécation de Folin et Wu;
- 3° Liqueur de Fehling en trois solutions;
- 4° Réactif molybdique phosphorique;
- 5° Solution étalon de glucose.

On trouvera au chapitre précédent les renseignements afférents à la préparation de ces réactifs.

## TECHNIQUE.

### PRÉLÈVEMENT.

On nettoie soigneusement à l'éther le lobule de l'oreille

(de préférence à la pulpe d'un doigt, plus sensible et saignant moins).

On saupoudre à peine de quelques traces de fluorure de sodium l'endroit à piquer pour éviter non seulement la glycolyse, mais aussi la coagulation pendant la durée du prélèvement.

Au moyen d'une lancette (très supérieure au vaccinosyle) on fait rapidement une piqûre profonde.

Tandis qu'on comprime le lobule entre le pouce et l'index gauches pour faire sourdre le sang, on prélève celui-ci au moyen de la pipette de Levaditi qui, tenue horizontalement, se remplit sans aspiration. On prélève ainsi facilement 0 cc. 50 de sang mesurés très exactement.

Il faut évidemment éviter les bulles, essuyer la pointe de la pipette, toutes précautions qui sont élémentaires pour un micro-dosage et qu'on observera aussi bien pour les tubes témoins que pour le ou les tubes de dosage.

#### DÉFÉCATION.

Dans un tube à essais, on mélange :

|                                                    |          |
|----------------------------------------------------|----------|
| Eau .....                                          | 2 cc.    |
| Sang .....                                         | 0 cc. 50 |
| Solution de tungstate .....                        | 0 cc. 5  |
| $\text{SO}^4\text{H}^2$ $\frac{2}{3}$ Normal ..... | 0 cc. 5  |
| Eau (q. s. pour 5 cc. 0) ....                      | 1 cc. 5  |

Agiter et filtrer sur un filtre minuscule.

S'il s'agissait de liquide céphalo-rachidien on en emploierait 1 cc., la quantité des réactifs restant inchangée.

#### RÉDUCTION.

Dans un tube à essais, on verse :

Filtrat ..... 2 cc. 5

Fehling composé ..... 1 cc.

Si l'on ne peut récupérer 2 cc. 5 de filtrat, on peut en employer moins. Il faut naturellement utiliser *rigoureusement* la même quantité des divers filtrats : glucose titré et solution à doser. Sous cette réserve, le dosage garde sa précision.

On met le tube 20 minutes au bain-marie à l'ébullition, après quoi on le refroidit dans l'eau.

#### FORMATION DE SOUS-OXYDE DE MOLYBDÈNE.

On ajoute alors dans le tube, pour transformer le précipité de sous-oxyde de cuivre (oxydure) en sous-oxyde de molybdène bleu intense et soluble :

Réactif phospho-molybdique ..... 1 cc.

On complète à 10 cc. jusqu'au trait de lime avec de l'eau.

Il n'y a plus qu'à comparer la teinte à celles des tubes étalons qui ont été préparés et mis au bain-marie en même temps que le tube du dosage.

## PRÉPARATION DE LA GAMME-ÉTALON.

Nous pensons qu'il est bon d'ajouter les réactifs défécants à la solution titrée de glucose pour que la tonalité de la gamme des tubes étalons soit rigoureusement comparable à celle du liquide mis en expérience.

On se comporte donc avec la solution de glucose *exactement* de la même façon qu'avec le sang. On mène en même temps les opérations qui sont identiques, et il n'est pas jusqu'au filtrage qui ne soit nécessaire.

a) On prépare donc des tubes en y mettant des quantités croissantes de solution de glucose titrée et mesurée à la pipette de Levaditi au centième de cc. Avec la technique que nous indiquons, ces quantités correspondent aux glycémies suivantes :

| <i>Tubes</i> | <i>Quantit. de sol. titrée de glucose</i> | <i>Glycémie</i> |
|--------------|-------------------------------------------|-----------------|
| I .....      | 0 cc. 40 .....                            | 0 gr. 80        |
| II .....     | 0 cc. 45 .....                            | 0 gr. 90        |
| III .....    | 0 cc. 50 .....                            | 1 gr.           |
| IV .....     | 0 cc. 55 .....                            | 1 gr. 10        |
| V .....      | 0 cc. 60 .....                            | 1 gr. 20        |
| VI .....     | 0 cc. 65 .....                            | 1 gr. 30        |

On peut, si c'est nécessaire, allonger la série.

Si on a dosé une glycorachie, il faut diviser le résultat par 2 puisque la quantité de liquide examinée a été double.

b) Les tubes étalons sont, comme les tubes de dosage,

et sans la moindre différence, « déféqués », filtrés, mis à réduire, additionnés de réactif phosphomolybdique et complétés à 10 cc. jusqu'au trait de lime.

#### COMPARAISON COLORIMÉTRIQUE.

On regarde les tubes sur fond blanc et il est facile d'apprécier à quel tube étalon correspond chaque tube à doser.

#### RÉSULTAT.

Ainsi exécuté, le dosage du glucose est d'une simplicité enfantine. En raison de la technique que nous employons, ce « dosage clinique » est en même temps un dosage précis. En effet, si un réactif est défectueux, si une petite erreur de technique a été commise, les tubes témoins sont influencés comme les tubes de dosage et, en fin de compte, le résultat est exact à la seule et unique condition que l'on parte d'une solution étalon de glucose rigoureusement établie et exactement mesurée.

## CHAPITRE XXIII

# Dosage du Chimisme gastrique et Résultats

---

### INDICATIONS.

En raison de la fréquence des formes frustes, on n'a plus le droit aujourd'hui d'éliminer le diagnostic d'*ulcus duodénal* avant d'avoir fait des examens de l'acidité gastrique.

Dans l'étude de l'*ulcus de l'estomac*, ces recherches, bien que passant après la radioscopie, présentent également un gros intérêt.

### PRINCIPE.

Le procédé de dosage que nous employons est dérivé des méthodes de Robin et Bournigault, de Tœpfer, de Lins-sier, de Binet et Verpy dont il n'est qu'une simplification.

### MATÉRIEL.

Tube de Fremont (c'est un tube de Faucher avec enema pour l'aspiration) si l'on se contente d'un ou deux dosages; mais mieux vaut un tube d'Einhorn restant à demeure plu-

sieurs heures si l'on veut pratiquer des dosages en série.

Deux compte-gouttes normaux.

## RÉACTIFS.

1° Réactif de Linossier (indicateur coloré) :

Diméthyl amino azo-benzol ..... 0 gr. 50

Phénolphtaléine ..... 2 gr.

Alcool à 95° ..... 100 cc.

2° Solution titrée de soude :

Soude, 5 gr. 48 ou sol. de soude normale : 137. cc.

Eau distillée Q. S. p. .... 1000 cc.

En raison de la quantité de suc gastrique (L gouttes) employée pour chaque dosage, 1 goutte de cette solution étalon correspond à 0 gr. 10 d'HCl pour 1000 dans le suc gastrique.

## CONDUITE DES PRÉLÈVEMENTS.

A) Le malade étant à jeun depuis la veille au soir, faire un tubage. Si on ramène plus de 5 ou 10 cc. de liquide, il y a :

*stase* : signe de sténose du pylore ;

ou *hypersécrétion* signe d'ulcère de l'estomac (Lœper).

B) Le repas d'épreuve que nous employons emprunte à ceux d'Ewald et de Delort leurs avantages respectifs :

a) Pain rassis : 60 grammes (Ewald) ;

b) Eau, 250 grammes (un quart).

Salicylate de soude, 0 gr. 10 (une pincée).

c) Prélèvements. — Delort en fait six dans l'heure qui suit le repas (un toutes les dix minutes) et un septième au bout d'une heure et demie. Nous nous contentons souvent de deux : l'un au bout d'une demi-heure, l'autre au bout d'une heure.

## TECHNIQUE DES ANALYSES.

Sur chaque prélèvement, on fera :

### A) RECHERCHE QUALITATIVE DU SALICYLATE DE SOUDE.

Le salicylate de soude est facilement mis en évidence avec une goutte de perchlorure de fer. Noter le moment de sa disparition ce qui indique que l'évacuation du repas d'épreuve est terminée (Delort). Cette recherche se fait sur une faible quantité (quelques gouttes suffisent de liquide gastrique prélevé dans un tube.

### B) DOSAGE DES ACIDITÉS.

Mettre dans une capsule de porcelaine :

Liquide à examiner, filtré ..... 5 cc.

Réactif de Linossier ..... 1 goutte

Une coloration rouge groseille apparaît, due à la présence d'acide chlorhydrique libre (si la coloration est jaune, c'est qu'il n'y a pas d'HCl libre).

Ajouter à la burette de Mohr de faible diamètre, ou à la

pipette de Levaditi la solution titrée de soude dont chaque dixième de centimètre cube correspond à 0 gr. 10 d'HCl par litre. On obtient ainsi, l'une après l'autre, les couleurs suivantes :

a) Quand le rouge devient rose saumon (ne pas attendre la teinte vraiment orange ou jus de mandarine de certains auteurs), c'est l'indice de neutralisation de l'acide chlorhydrique libre :

Normalement, 0 cc. 6, soit 0 gr. 60 pour 1.000.

b) Quand la teinte saumon devient jaune franc (jaune d'or, jaune verdâtre, vert poiré, c'est l'indice de la neutralisation des acides de fermentation :

Normalement, 0 cc. 1, soit 0 gr. 10 pour 1.000.

c) Quand le rose apparaît, c'est l'indice de la neutralisation de l'HCl combiné :

Normalement, 1 cc. 30, soit 1 gr. 30 pour 1.000.

L'appréciation des virages aux teintes intermédiaires nécessite un certain entraînement et varie avec chaque opérateur. Aussi, beaucoup d'auteurs se contentent-ils de noter :

Le premier virage (disparition du rouge groseille  
= acidité chlorhydrique libre.

Le dernier virage (apparition de la teinte rose)  
= acidité totale.

## RÉSULTATS.

Nous résumons dans le tableau suivant les résultats normaux constatés au cours de plusieurs prélèvements après le

repas d'épreuve, et à titre d'indication, les chiffres moyens observés chez des malades atteints d'ulcus duodénal. L'acidité est évaluée en grammes d'acide chlorhydrique par litre.

| Moment<br>du<br>prélèvement | H cl<br>libre<br>H | Acides<br>de<br>fermentation<br>F | H cl<br>combiné<br>C | Acidité<br>totale<br>A | Moment<br>de dispari-<br>tion<br>du salicylate |
|-----------------------------|--------------------|-----------------------------------|----------------------|------------------------|------------------------------------------------|
|-----------------------------|--------------------|-----------------------------------|----------------------|------------------------|------------------------------------------------|

#### A) Sujet normal

|             |           |           |           |           |            |
|-------------|-----------|-----------|-----------|-----------|------------|
| 1/2 heure   | 0—0,10    | 0,10-0,20 | 0,50-0,60 | 0,70-0,80 | 40 minutes |
| 1 heure     | 0,50-0,60 | 0,10-0,20 | 1-1,50    | 1,60-1,90 |            |
| 1 heure 1/2 | 0,10-0,20 | 0,10-0,20 | 0,90-1,10 | 1,20-1,30 |            |

#### B) Ulcus duodénal

|             |                                            |      |          |      |                 |
|-------------|--------------------------------------------|------|----------|------|-----------------|
| 1 heure     | 1,20                                       | 0,10 | 1 gr. 20 | 2,50 | 20 à 30 minutes |
| 1 heure 1/2 | chiffres identiques ou souvent plus élevés |      |          |      |                 |

### INTERPRÉTATION.

Une grande quantité d'acides de fermentation ne veut pas dire forcément cancer de l'estomac. Elle est seulement la conséquence du manque d'acide chlorhydrique libre, ce qui s'observe chez beaucoup de cancers de l'estomac, mais aussi chez des dyspeptiques atteints de gastrite atrophique.

L'hyperchlorhydrie à un gramme d'HCl libre peut exister au cours d'une gastrite en dehors de toute lésion ulcéreuse.



## CHAPITRE XXIV

# Le Dosage colorimétrique dans l'Epreuve de la Phénolsulfonephtaléine

---

### INDICATIONS

Procédé à la fois élégant et précis de l'exploration de la fonction rénale, il présente comme principal avantage, selon Rowntree et Geraghty de n'être pas influencé, dans son élimination, par d'autres facteurs que les reins.

Rapidement mené, n'entraînant pas de calculs, donnant des renseignements exacts, il serait plus employé qu'il ne l'est si l'on disposait d'un moyen facile de dosage ne nécessitant pas d'appareil spécial.

Avant de décrire le procédé que nous employons pour le dosage colorimétrique de la P. S. P. éliminée, rappelons rapidement les détails de l'injection et du prélèvement des urines.

### INJECTION DE LA P. S. P. ET PRÉLEVEMENT DES URINES.

1° Faire uriner le malade à fond. Lui faire absorber

un verre d'eau (Lian et Siguret). Injection intrafessière profonde d'un centimètre cube (rigoureusement mesuré) d'une solution contenant six milligrammes de P. S. P. par cc., conservée en ampoules stériles.

2° Une heure dix après l'injection, le malade doit vider *complètement* sa vessie (procéder au besoin au sondage).

L'urine intégralement recueillie est versée dans une éprouvette d'un litre. Cette urine est alcalinisée par quelques cc. de lessive de soude; sous l'influence de l'alcalinité, l'urine prend la belle teinte rouge qu'il va falloir doser. Rame-ner le volume à un litre par addition d'eau. Mélanger.

Il n'y a plus qu'à comparer la teinte avec celles d'une gamme de tubes étalons.

#### MATÉRIEL POUR LE DOSAGE.

1° On choisit au moins six tubes à essais, de moyenne taille, rigoureusement semblables, en verre bien incolore. On les jauge d'un trait de lime à 10 cc.

2° Une pipette de Levaditi ou à défaut un compte-gouttes.

3° Solution diluée de rouge à 6 milligrammes pour 100 cc.

Pour établir l'échelle des teintes, on part d'une solution faite en diluant au centième la solution de P. S. P. employée pour l'injection :

|                                        |         |
|----------------------------------------|---------|
| Sol. de P. S. P. à 6 mgr. par cc. .... | 1 cc.   |
| Eau Q. S. p. ....                      | 100 cc. |

Il est bon d'ajouter quelques gouttes de lessive de soude. En raison de la tonalité variable des échantillons de P. S. P. suivant leur provenance, on fera bien d'utiliser, pour préparer l'échelle étalon, un produit de même origine. On peut même se servir de ce qui reste dans l'ampoule après l'injection :

Sol. de P. S. P. à 6 mgr. par cc. .... II gouttes  
(mesurées au compte-gouttes normal).  
Eau Q. S. pour ..... 10 cc.  
Lessive de soude environ ..... 1 goutte

## PRÉPARATION DE LA GAMME DE TEINTES.

Pour la majorité des cas, une gamme correspondant à des éliminations de 30 % à 70 % est très suffisante. On prépare donc cinq tubes dans lesquels on verse respectivement les quantités suivantes de la solution à 6 milligrammes pour 100 cc.

|        |          |                                         |
|--------|----------|-----------------------------------------|
| I ..   | 0 cc. 30 | correspondant à une élimination de 30 % |
| II ..  | 0 cc. 40 | » » 40 %                                |
| III .. | 0 cc. 50 | » » 50 %                                |
| IV ..  | 0 cc. 60 | » » 60 %                                |
| V ..   | 0 cc. 70 | » » 70 %                                |

On complète chaque tube à 10 cc. en ajoutant de l'eau jusqu'au trait de lime.

Il va de soi que si l'on n'a pas sous la main une pipette de Levaditi, on peut, au lieu de compter 10 % par dixième

de cc., compter 5 % par goutte de solution rouge versée dans chaque tube.

## COMPARAISON COLORIMÉTRIQUE.

On remplit un tube jusqu'au trait de lime de la solution à doser. Il n'y a plus qu'à comparer. L'examen des tubes se fait en les regardant par le haut (pour voir le liquide sous une plus grande épaisseur) tandis qu'on a placé, sur la planchette inférieure du porte-tubes, une feuille de papier blanc sur laquelle repose le fond des tubes. On cherche ainsi la teinte la plus voisine de la teinte à doser.

Par ce procédé, une différence de 10 % est facilement perceptible à chacun, et un œil un peu exercé enregistre une différence de 5 %.

## RÉSULTAT.

Normalement, la quantité de P. S. P. éliminée en 80 minutes est d'au moins 50 % (d'ordinaire 60 %). Le taux d'élimination baisse proportionnellement à la néiopragie rénale :

|                         |           |
|-------------------------|-----------|
| Néphrite : légère ..... | 50 à 40 % |
| moyenne .....           | 30 à 25 % |
| grave .....             | 20 à 15 % |
| très grave .....        | 10 à 2 %  |

Les résultats de l'élimination de la P. S. P. cadrent habituellement avec ceux de la constante d'Ambard; et à

vrai dire nous avons recueilli autour de nous l'impression que les chiffres indiquant un taux d'élimination satisfont davantage l'esprit que les variations d'une « constante » représentée par un nombre décimal.

Il nous a semblé néanmoins que parfois l'épreuve de la P. S. P. se montre moins sensible que la constante; et nous gardons le souvenir d'un malade chez lequel les deux épreuves faites en même temps ont donné les discordances suivantes :

« P. S. P. = 60 % : élimination normale.

Constante = 0,116 : indiquant, d'après la formule admise, que les reins fonctionnent comme s'ils étaient réduits à la moitié de leur parenchyme.

---



## CHAPITRE XXV

# Recherche de l'Urobiline

---

### INDICATIONS.

L'urobiline (bilirubine réduite) n'existe normalement dans l'urine qu'à l'état de traces. Hormis les cas où elle est liée à une hémolyse (ictère hémolytique, résorption sanguine, intoxications) sa présence en quantité notable traduit un certain degré d'*insuffisance hépatique* dont elle constitue un *signe précoce*.

Sa recherche est donc indiquée au cours d'un examen complet et spécialement toutes les fois que l'on a intérêt à préciser l'état du foie, avant une anesthésie générale par exemple. Elle est aussi l'élément capital dans la *surveillance hebdomadaire du foie au cours d'un traitement de novarsé-nobenzol*, permettant d'ordinaire de prévoir — et par conséquent d'éviter — les accidents parfois fort graves d'intolérance.

Le mode de recherche le plus simple nous a été enseigné par M. Queyrat. Il permet de se passer d'alcool amylique et de chloroforme.

## RÉACTIFS.

Alcool ordinaire (éthylque).

Acétate de zinc en cristaux.

Teinture d'iode.

## TECHNIQUE.

Dans un tube à essais, mettre :

Urine à examiner : trois travers de doigt.

Alcool : trois travers de doigt.

Acétate de zinc : quelques pincées.

Agiter vigoureusement. Filtrer. Ajouter au filtrat :

Teinture d'iode : 1 goutte.

## RÉSULTAT.

Regarder sur fond noir ou mieux en plaçant le tube dans un faisceau lumineux, par exemple celui émis par un condensateur pour ultra-microscope (qui peut d'ailleurs être simplement réalisé à l'aide d'un ballon de verre d'un litre rempli d'eau, et d'une lampe ordinaire).

On verra une fluorescence verte plus ou moins marquée.

## INTERPRÉTATION.

L'opérateur aura vite saisi la différence entre la fluorescence ébauchée normale et celle très marquée dont l'intensité est en rapport avec l'insuffisance hépatique.

## CHAPITRE XXVI

---

# Recherche de l'élimination des arsenicaux dans l'urine

---

### INDICATIONS.

Au cours du traitement de la syphilis par le novarsénobenzol, on peut être appelé dans certains cas (troubles hépatiques, troubles rénaux) à vérifier les conditions dans lesquelles se fait l'élimination arsenicale.

Le procédé de Marsh (formation d'hydrogène arsénié et décomposition par la chaleur), employé par les chimistes et les toxicologues n'est guère applicable en clinique.

La méthode d'Abelin est plus pratique. Elle permet de rechercher l'arsénobenzol et le novarsénobenzol dans l'urine, et même d'évaluer, d'une manière approximative, la quantité éliminée.

### PRINCIPE.

L'arsénobenzol et le novarsénobenzol contenant des groupements aminés peuvent fournir un composé diazoïque

sous l'action du nitrite de soude en solution acide.

Ce composé diazoïque peut se combiner en solution alcaline avec un phénol pour donner un colorant azoïque. La résorcine, donne dans ces conditions, une couleur rouge franche.

Voici la technique d'après Leredde et Rubinstein :

### RÉACTIFS.

- 1° Solution de nitrite de soude à 0,5 pour 100.
- 2° Solution d'acide chlorhydrique à 10 pour 100.
- 3° Solution extemporanée de résorcine pure à 10 pour 100.
- 4° Solution de carbonate de soude à 20 pour 100.
- 5° Papier amylo-iodo-potassique.

### TECHNIQUE.

Dans un premier tube à essais, on verse 5 à 7 cc. d'urine froide; on ajoute 3 ou 4 gouttes d'acide chlorhydrique et 3 gouttes de la solution de nitrite de soude. Voir à l'aide du papier à l'amidon et à l'iodure de potassium si la diazotation est terminée : appliquer pour cela une goutte de liquide sur le papier, avec un agitateur. S'il n'y a pas de nitrite en excès, l'iode ne peut plus être libéré et la tache bleue foncée, caractéristique d'un excès de nitrite ne se produira pas.

Dans un deuxième tube, on verse 0 gr. 30 de résorcine

que l'on dissout dans 3 cc. d'eau distillée et on ajoute 2 à 3 cc. de la solution de carbonate de soude.

On verse le contenu du premier tube dans le deuxième.

La solution alcaline de résorcine brunissant instantanément à l'air, il faut opérer très vite pour ne pas troubler la teinte rouge caractéristique de la réaction.

## RÉSULTATS.

S'il y a du novarsénobenzol dans l'urine, la résorcine sera colorée en rouge, sinon la couleur du mélange sera brune.

La réaction d'Abelin est très sensible. Quelques gouttes d'une solution d'arsénobenzol à un pour un million donnent une réaction nette.

Sans être caractéristique (car de nombreux dérivés de l'aniline peuvent la produire), elle permet de surveiller l'élimination de l'arsénobenzol chez les malades traités; il importe que le malade ne prenne ni antipyrine, ni phénacétine lorsqu'on veut exercer un contrôle précis, qu'il suffit d'ailleurs de répéter tous les deux ou trois mois lorsque l'élimination qui suit la première injection s'est faite de façon normale.

## CONDUITE DES PRÉLÈVEMENTS.

On donne au malade huit tubes à essais, contenant un antiseptique (quelques cristaux de thymol ou une goutte de

chloroforme); après l'injection, il remplira, à moitié, un tube, au bout d'une demi-heure; un second au bout de deux heures; un troisième après quatre heures. Puis, chaque matin pendant cinq jours, de l'urine est versée dans un des tubes restants. Il faut recommander au patient d'étiqueter avec soin.

L'élimination est proportionnelle à la quantité de sel injecté. D'autre part, sa durée dépend, dans un certaine mesure, de cette quantité.

Normalement, l'élimination urinaire commence de très bonne heure. La première émission qui suit l'injection contient déjà une grande quantité d'arsénobenzol. Cinq minutes après l'injection, ce sel peut apparaître dans l'urine. L'élimination se poursuit pendant vingt-quatre heures; la présence d'arsénobenzol est rare si la dose a été faible.

\*  
\*\*

Signalons maintenant dans un autre ordre d'idées une méthode biologique absolument caractéristique, fort séduisante en raison de sa simplicité, dont nous nous proposons de rechercher les meilleures modalités de sa mise en œuvre et les détails optimum pour son application. En voici le principe :

#### RECHERCHE DE L'ARSENIC AVEC LES CULTURES DE PENICILLIUM.

On se sert de culture de *Penicillium Brevicaule* de deux

ou trois jours. Pour cela, on a ensemencé des tubes de pomme de terre avec du *Penicillium Brevicaule* dont il est facile de garder une souche que l'on peut se procurer partout (l'Institut Pasteur en délivre).

On verse sur la culture quelques gouttes de la solution à analyser au point de vue arsenic et on met à l'étuve.

S'il y a présence de cette substance, une odeur alliée apparaît au bout de deux heures, qui devient violente au bout de quatre heures.

Cette réaction est très sensible. Elle est :  
légèrement positive avec une solution à 1 pour 10 millions,  
moyennement positive avec une solution à 1 pour 1 million,  
fortement positive avec une solution à 1 pour 100.000.

---



## CHAPITRE XXVII

### La préparation de l'hypobromite à partir du bromure de potassium

---

D'ordinaire l'hypobromite de sodium se prépare extemporanément en partant du brome. Or, comme il est désagréable de conserver dans son armoire à produits chimiques cette substance qui émet des vapeurs corrosives, nous avons beaucoup apprécié ce mode de préparation de l'hypobromite dû à Fouchet et Chaumeil :

|                                     |          |
|-------------------------------------|----------|
| Extrait de javel .....              | 25 cc.   |
| Bromure de potassium .....          | 8 gr. 25 |
| Acide chlorhydrique officinal ..... | 5 cc.    |

Le brome se libère. Ajouter :

|                        |        |
|------------------------|--------|
| Lessive de soude ..... | 10 cc. |
|------------------------|--------|

Le mélange doit présenter une légère teinte brune.

Avec l'hypobromite ainsi préparé plus qu'avec tout autre, il convient de faire le dosage par épreuve comparative avec une solution étalon d'urée.

Profitions de ce chapitre pour donner les indications nécessaires pour le titrage des eaux et extraits de javel et de l'hypochlorite de chaux.

Diluer :

Eau de javel ou hypochlorite de chaux : 10 grammes.

Eau q. s. p. : un litre.

Mélanger dans une capsule ou un verre à expériences :

Solution précédente : 25 cc.

Iodure de K (préalablement dissous dans un peu d'eau) :  
2 grammes.

Acide chlorhydrique (pour acidifier légèrement) : quelques gouttes.

On dose l'iode mis en liberté par une solution d'hypo-sulfite de soude à 24 gr. 800 par litre (hyposulfite cristallisé purifié). Un centimètre cube de cette solution correspond à 3 mgr. 55 de chlore actif.

*Correspondance des degrés chlorométriques avec la quantité de chlore actif.*

Un litre d'hypochlorite titrant 1° chlorométrique :

Contient .  $\frac{35,46}{11,16} = 3 \text{ gr. } 17$  de chlore actif.

Donc 1° chlorométrique = 3 gr. 17 de chlore actif par litre.

---

## Conclusions

---

Nous nous sommes efforcé de montrer dans ce travail un certain nombre de points :

1° Les recherches modernes de laboratoire peuvent, pour la plupart, être faites correctement en l'absence de l'arsenal coûteux et compliqué que l'on s'accorde d'ordinaire à considérer comme indispensable.

2° Les méthodes dites cliniques sont susceptibles d'une précision suffisante si l'on diminue les causes d'erreur en remplaçant les calculs très théoriques qui ne corrigent pas les multiples inexactitudes, par une réaction témoin faite avec un réactif étalon (urée, glucose, etc...).

3° La réaction de contrôle est le seul moyen de se mettre à l'abri du résultat fantaisiste lié à une faute de technique.

*Vu le Doyen,*

H. BERTHELÉMY.

*Vu le Président,*

L. TANON.

Vu et permis d'imprimer :

*L2 Recteur de l'Académie de Paris,*

CHARLÉTY.



## Index Bibliographie

---

- AGASSE-LAFONT. — Les applications pratiques du laboratoire à la clinique. Vigot, 1920.
- AMBARD et SCHMID. — La réserve alcaline. Doin, 1928.
- ARMAND-DELILLE et NÈGRE. — Technique de la réaction du complément de Bordet-Gengou. Masson, 1922.
- BARD. — Les examens de laboratoire. Masson.
- BEAUDOIN et LEWIN. — Dosage de la glycémie. Soc. de Chimie biol., 21 décembre 1926.
- BEAUVY. — Examens de laboratoire. Maloine, 1926.
- BESREDKA. — Anaphylaxie, anti-anaphylaxie. Masson.
- BESSON. — Technique microbiologique et sérothérapie. — Baillière, 1924.
- BEZANÇON. — Précis de microbiologie clinique. Masson.
- BIERRY et VOSKRESSENSKY. — Nouveau procédé de microdosage du sucre libre et du sucre protéidique dans le plasma sanguin. Soc. de Biol., 28 janvier 1928 et idem, 10 mars 1928.
- BIERRY et GOIRAN. — Microdosage du glucose. Application au dosage du glycogène hépatique. Soc. de Biol., 23 juin 1928.

- CALMETTE, NÈGRE et BOQUET. — Manuel technique de microbiologie et sérologie. Masson, 1926.
- CLOGNE. — Analyses de chimie biologique. Le François, 1924.
- DENIGÈS. — Précis de chimie analytique. Maloine, 1920.
- DOPTER et SAQUÉPÉE. — Précis de bactériologie. Baillière, 1921.
- DOWIS. — Guide pratique pour l'analyse du sang. Vigot, 1925.
- DURUPT. — Microméthodes et semi-microméthodes appliquées aux analyses chimiques du sang et des humeurs. Poinat, 1924.
- FIESSINGER (N.). — Les diagnostics biologiques. Maloine, 1929.
- FONTÈS et THIVOLLE. — Recherches expérimentales sur le microdosage des substances glucidiques réductrices du sang. *Bull. Soc. Chimie Biol.*, avril 1927.
- GUIART et GRIMBERT. — Précis de diagnostics chimique, biologique et parasitologique. Lamarre, 1922.
- HUGEL, DELATER et ZÖLLER. — Comment interpréter en clinique les réponses du laboratoire. Maloine, 1922.
- LAURENT-GÉRARD. — Dosage colorimétrique en lumière monochromatique de la cholestérine, du glucose, de l'acide urique et de l'hémoglobine. *Soc. de Biol.* 5 mai 1928,

- M. LANGERON. — Précis de microscopie. Masson.
- LETULLE et PRUVOST. — Diagnostics de Laboratoire. Maloïne, 1924.
- MOREAU. — Guide pratique d'analyses médicales. Vigot, 1925.
- PAUCHET et BÉCARD. — La transfusion du sang. Doin, 1924.
- RODILLON. — La réaction de Wassermann simple et précise. Maloïne, 1923.
- RONCHÈSE. — La réaction de Bordet-Wassermann. Masson, 1924.
- Guide pratique pour l'analyse des urines. Baillière.
- RUBINSTEIN (MARC). — Traité pratique de sérologie et de séro-diagnostic. Maloïne, 1921.
- THÉPENIER. — Les sucres du sang. Th. de Paris, 1926.
- VILLE et DERRIEN. — Chimie biologique médicale. Baillière, 1926.
- VINCENT (M.). — La concentration des ions H et sa mesure par la méthode électrométrique. Hermann, 1924.
- WALTHER et ULRICH. — Une microméthode colorimétrique de mesure du pH. *Bull. Soc. de Chimie Biol.*, t. VIII, n° 9 (novembre 1926).
- YVON et MICHEL. — Manuel d'analyse des urines. Doin, 1920.
-



## Table des Matières

---

|                                                                                                 | Pages |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| Introduction .....                                                                              | 9     |
| I. Simplification de la réaction de Bordet-Wassermann .....                                     | 15    |
| II. La Réaction de Weichbrodt .....                                                             | 27    |
| III. La Réaction de Pandy .....                                                                 | 29    |
| IV. Comment déterminer les qualités des systèmes optiques d'un microscope .....                 | 31    |
| V. La coloration de Giemsa et le colorant de Giemsa original. ....                              | 37    |
| VI. Comment réunir à coup sûr les coupes histologiques .....                                    | 43    |
| VII. Mesure de l'index apsonique .....                                                          | 49    |
| VIII. Mesure de la viscosité sans viscosimètre..                                                | 55    |
| IX. Comment se passer de réfractomètre ....                                                     | 61    |
| X. Temps de sédimentation globulaire .....                                                      | 63    |
| XI. La recherche des groupes sanguins .....                                                     | 65    |
| XII. La transfusion sanguine .....                                                              | 69    |
| XIII. Appareil improvisé pour pneumothorax artificiel ou injection sous-cutanée d'oxygène ..... | 73    |

|                                                                                              | Pages |
|----------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| XIV. Comment faire une prise de sang sans ponction veineuse ni ventouse .....                | 79    |
| XV. La mesure du $\mu\text{H}$ par la méthode colorimétrique .....                           | 83    |
| XVI. Le métabolisme basal .....                                                              | 88    |
| XVII. L'épreuve de Sellar (résistance à l'alcalinisation) .....                              | 95    |
| XVIII. Mesure de la tension intra-alvéolaire de l'acide carbonique .....                     | 97    |
| XIX. La réserve alcaline dans son rapport avec le $\text{CO}^2$ intra-alvéolaire .....       | 103   |
| XX. Dosage du sucre par la méthode de Cl. Bernard .....                                      | 105   |
| XXI. Semi-microméthode pour le dosage du sucre du sang et du liquide céphalo-rachidien ..... | 109   |
| XXII. Microméthode pour le dosage du sucre ...                                               | 123   |
| XXIII. Dosage du chimisme gastrique et résultats ..                                          | 129   |
| XXIV. Le dosage colorimétrique dans l'épreuve de la phénolsulfonephtaléine .....             | 135   |
| XXV. Recherche de l'urobiline .....                                                          | 141   |
| XXVI. Recherche de l'élimination des arsenicaux dans l'urine .....                           | 143   |
| XXVII. La préparation de l'hypobromite à partir du bromure de potassium .....                | 149   |
| Conclusions .....                                                                            | 151   |
| Index bibliographique .....                                                                  | 153   |



